FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1966

N° 795

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ETAT

PAR

Claude PERRIER

né le 27 juin 1938 à SAINT-DENIS (Seine)

Externe des Hôpitaux de Paris

Présentée et soutenue publiquement le :

VACCINATION ANTIPOLIOMYELITIQUE.

Etude de sujets incomplètement immunisés après vaccination complète par le vaccin inactivé de l'Institut Pasteur.

Président : M. THIEFFRY, Professeur.

EDITIONS A.G.E.M.P. — 8, RUE DANTE - PARIS-Ve

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1966 N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ETAT

PAR

Claude PERRIER

né le 27 juin 1938 à SAINT-DENIS (Seine)

Externe des Hôpitaux de Paris

Présentée et soutenue publiquement le :

VACCINATION ANTIPOLIOMYELITIQUE.

Etude de sujets incomplètement immunisés après vaccination complète par le vaccin inactivé de l'Institut Pasteur.

Président : M. THIEFFRY, Professeur.

EDITIONS A.G.E.M.P. — 8, RUE DANTE - PARIS-Ve

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

1/1/1966

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

DOYEN . . . . . Georges BROUET.

1er ASSESSEUR . . . . . Daniel BARGETON

2e ASSESSEUR . . . . . Jean GOSSET

I. — PROFESSEURS

1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie et cytologie pathologiques	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Bactériologie et virologie	TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
—	POLONOVSKI (J.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	MALMEJAC (J.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
—	DOGNON (A.)
—	DJOURNO (A.)
Cancérologie médicale et sociale	DENOIX (P.)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Génétique fondamentale	LEJEUNE (J.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	COURY (Ch.)
Histologie	GIROUD (A.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
—	KUSS (R.)
—	VERNE (J.-M.)
Pathologie exotique	N...
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	LAROCHE (Cl.)
—	BRICAIRE (H.)
—	PÉQUIGNOT (H.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	N...
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
—	LEVY (Mlle J.)
Physiologie	BARGETON (D.)
—	PARROT (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales	LEPAGE (F.)

	MM.
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	CAUCHOIX (J.)
Thérapeutique	CONTE (M.)
Thérapeutique appliquée	LAMOTTE (M.)

b) Professeurs à titre personnel :

Anatomie anthropologique	OLIVIER (G.)
Anatomie pathologique	NEZELOF (Ch.)
Bactériologie	BARBIER (P.)
Biochimie médicale	DESGREZ (P.) / DREYFUS (J.-Cl.)
Biologie médicale	BOURLIÈRE (F.)
Histologie	COUJARD (R.)
Parasitologie	LARIVIÈRE (M.)
Pathologie expérimentale	LOEPER (J.) / RICHET (G.)
Physiologie	DEJOURS (P.) / ROUCAYROL (J.-Cl.) / SCHERRER (J.)
Physique médicale	KELLERSHOHN (L.) / GOUGEROT (L.) / TUBIANA (M.)
Radiologie médicale	FISCHGOLD (H.)

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

		MM.
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)		REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)		SOULIÉ (P.)
— — (Boucicaut)		LENÈGRE (J.)
Cliniques chirurgicales	Beaujon	LORTAT-JACOB (J.-L.)
	—	N...
	Cochin	LEGER (L.)
	Hôtel-Dieu	PATEL (J.)
	Saint-Antoine	GOSSET (J.)
	Salpêtrière	SICARD (A.)
	Tenon	OLIVIER (Cl.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)		MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
— — — (Foch)		PADOVANI (P.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)		FÈVRE (M.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)		DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)		MATHEY (J.)
Clinique dermatologique (Saint-Louis)		DUPERRAT (F.)
Clinique endocrinologique (Pitié)		DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)		LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)		HUGUIER (J.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)		DEGOS (R.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)		TURPIN (R.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)		MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)		DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)		HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)		BERNARD (J.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)		CASTAIGNE (P.)
Cliniques médicales	Bicêtre	DEPARIS (M.)
	Broussais	MILLIEZ (P.)
	Cochin	BROUET (G.)
	Hôtel-Dieu	BARIÉTY (M.)
	Lariboisière	SÈZE (S. de)
	Pitié	DREYFUS (G.)
	Saint-Antoine	KOURILSKY (R.)
	Saint-Antoine	BOUDIN (G.)

	MM.
Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)	DEBRAY (Ch.)
Clinique médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	MARIE (J.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	JUSTIN-BESANÇON (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales — Baudelocque	LACOMME (M.)
Cliniques obstétricales — Saint-Antoine	MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	OFFRET (G.)
— — (Cochin)	BREGEAT (P.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie	MOZZICONACCI (P.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)	THIEFFRY (S.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)	BERNARD (E.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	ROUX (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	LEMAIRE (A.)
Clinique toxicologique	GAULTIER (M.)
Clinique traumatologique et orthopédique (R.-Poincaré)	JUDET (R.)
Clinique urologique (Cochin)	ABOULKER (P.)
— — (Necker)	COUVELAIRE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	LAPLANE (R.)
Séméiologie médicale (A. Chantin)	DOMART (A.)
— — (Lariboisière)	BOUVRAIN (Y.)
— — (Pitié)	RAMBERT (P.)
— — (Rothschild)	WOLFROMM (R.)
Séméiologie et clinique chirurgicales (Broussais)	POILLEUX (F.)

b) Professeurs à titre personnel :

Hématologie	ANDRÉ (R.)
	BOUSSER (J.)
Hydrologie et climatologie	GIBERTON (A.)
Maladies infectieuses	BASTIN (R.)
Médecine	AZERAD (E.)
	BOUR (H.)
	CABROL (Ch.)
	GROSSIORD (A.)
	LAMBLING (A.)
	LAUNAY (Cl.)
	PAYET (M.)
	PERRAULT (M.)
	SIGUIER (F
	WORMS (R.)
Neuro-chirurgie	LE BEAU (J.)
Neurologie	LHERMITTE F.
Neuro-psychiatrie	PICHOT (P.)
Oto-Rhino-Laryngologie	MADURO (R.)
Pédiatrie	POLONOVSKI (Cl.)
	ROYER (P.)
Pneumo-Phtisiologie	KREIS (B.)
	MEYER (A.)
Rhumatologie	DELCARRE (F.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

	MM.
Anatomie pathologique	GOUYGOU (Ch.)
Anesthésiologie	VOURC'H (G.)
Bactériologie	CHRISTOL (D.)
Biochimie médicale	CARTIER (P.) GONNARD (P.)
Biologie médicale	HARTMANN (L.)
Hématologie	BILSKI-PASQUIER (B.)
Maladies infectieuses	DUPONT (V.)
Physique médicale	COURSAGET (J.) GREMY (F.)
Physiologie	GIRARD (Fr.)
Stomatologie	CHAPUT (Mme A.)
Thérapeutique	CHASSAGNE (P.)

III. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie	HAUDUROY (P.) Pr. s. ch
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr. s. ch.

IV. — PROFESSEUR ASSOCIÉ

Statistique médicale et épidémiologique	SCHWARTZ (D.)

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Conseillers administratifs	Mlle CHAINTREUIL (G.) M. FAYE (R.)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque. Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateurs	Mlles DUMAITRE (P.), LAURENT (H.), LE NOIR (G.),
Bibliothécaires	Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlles DUROZOY (M.-F.), ROBERGE (D.), Dr SCHILLER (J.)

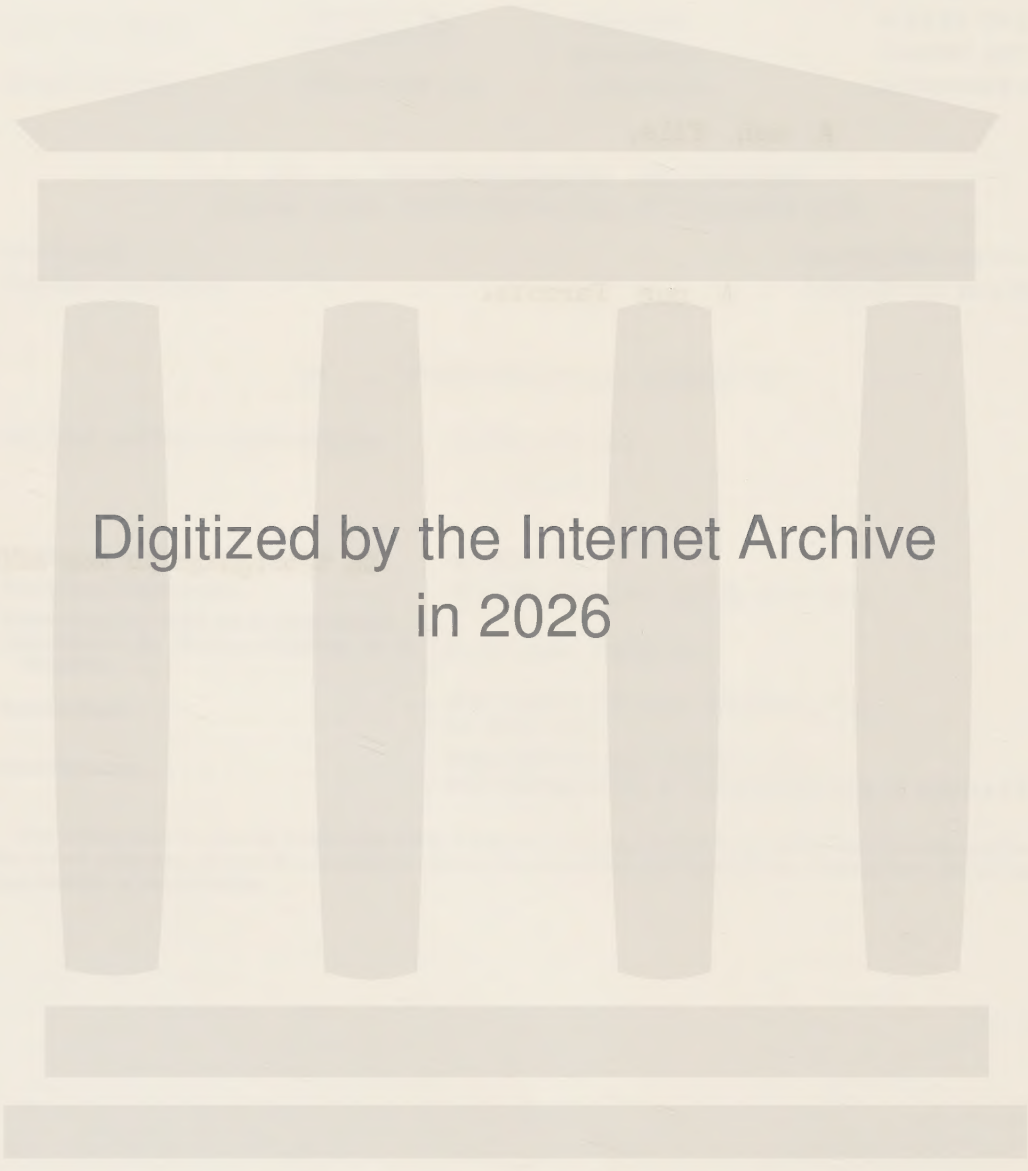
Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A ma Femme.

A mon fils.

A mes Parents.

En témoignage de mon affection.


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546023_0014

A Monsieur le Professeur S. THIEFFRY.

Professeur de Clinique de Pédiatrie et de Puériculture.

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter
la présidence de cette thèse.

Hommage respectueux et reconnaissant.

A Monsieur le Professeur Agrégé A. ROSSIER.

Qui nous a inspiré cette thèse.

En témoignage de notre gratitude et de notre respectueux attachement.

A nos Maîtres d'Externat :

1961 - Monsieur le Docteur ARVAY.

1961-1962 - Monsieur le Professeur Agrégé B. DUHAMEL.

1962 - Monsieur le Docteur BETOURNE.

1962-1963 - Monsieur le Professeur Agrégé THOYER-ROZAT.

1963 - Monsieur le Professeur Agrégé A. ROSSIER.

1963-1964 - Monsieur le Docteur BACH.

1964 - Monsieur le Docteur SCEE.

1964-1965 - Monsieur le Professeur Agrégé R. MALLET.

A nos autres Maîtres dans les Hôpitaux :

Messieurs les Professeurs Agrégés :

- M. BARIETY
- J. PATEL
- ALBAHARRY
- TURIAF.

A Madame le Docteur L. LARNAUDIE.

En témoignage de notre profonde reconnaissance.

I N T R O D U C T I O N

L'étude que nous allons entreprendre a été réalisée dans le Service de Monsieur le Professeur Agrégé A. ROSSIER à l'hôpital HEROLD Service de vaccination antipoliomyélitique.

Le but de ce travail consiste en :

1° La recherche de l'éfficacité de la vaccination antipoliomyélitique par le vaccin français inactivé de P. LEPINE, chez une population d'enfants ayant reçu la première injection entre l'âge de 1 à 14 ans et subi par la suite une vaccination complète avec deux rappels.

2e L'étude de 59 sujets, qui après vaccination complète présentaient un déficit en anticorps antipoliomyélitiques.

Cette étude nous permettra d'envisager successivement.

CHAPITRE I.

Rappel historique de la vaccination antipoliomyélitique.

I - Vaccins employés

A - Les vaccins vivants atténués

B - Les vaccins inactivés.

II - Contrôle de l'éfficacité vaccinale

A - Réalisation de la réaction

1) Milieu

2) Souche cellulaire

3) Souche de virus

B - Technique

1) Disposition de la réaction
2) Témoins
3) Lectures

C - Dosage quantitatif.

CHAPITRE II -

Etude systématique de l'immunisation.
Efficacité du vaccin inactivé LEPINE.

I - Technique de vaccination et contrôle d'anticorps

II - Résultats.

A - Enfants ayant une immunité spontanée

B - Résultats de la vaccination

1) Avant premier rappel
2) Un an après le premier rappel
3) Deux ans après le second rappel.

C - Résultats globaux de la vaccination.

CHAPITRE III -

Etude des sujets non immunisés après vaccination complète.

I - Etude comparative des âges des sujets d'étude et des sujets témoins.

II - Etude de l'évolution de l'immunisation.

A - Sujets avec contrôle d'anticorps avant vaccination

1) Sujets "triples négatifs"
2) Sujets présentant une immunité naturelle contre un ou deux types de virus.

B - Sujets sans contrôle d'anticorps avant vaccination

III - Etude de la répartition des groupes sanguins.

IV - Electrophorèse.

A - Résultats.

B - Etude statistique.

C - Conclusion.

V - Immuno électrophorèse.

A - Principe..

1) Rappel de la nomenclature actuelle.
2) Résumé de la technique.

B - Résultats.

C - Conclusion et discussion.

VI - Dosage d'anticorps diphtériques.

A - Principe.

1) Titrage de la toxine.
2) Titrage du pouvoir antitoxique du sérum humain.

B - Résultats.

CONCLUSIONS.

Ce travail ayant nécessité de nombreux examens de laboratoire nous tenons à remercier plus particulièrement Monsieur MESCHAKA qui a bien voulu se charger de l'étude immuno électrophorétique des sérums ; Mademoiselle SARRUT qui a effectuer les recherches de groupes sanguins avec dosage d'isohémagglutines et Madame TROTTOUX qui a pratiqué au Laboratoire de Virologie de l'Hôpital Hérold les dosages d'anticorps antipoliomyélitique et antidiphtérique. Qu'ils trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude.

ooOoo

CHAPITRE I.

RAPPEL HISTORIQUE DE LA VACCINATION ANTIPOLIOMYELITIQUE

La nature virale de la poliomyélite, définie cliniquement par HEINE en 1840, CORDIER en 1885 et MEDIN en 1887 fut prouvée expérimentalement par LANDSTEINER et POPPER en 1909, qui purent transmettre la maladie paralytique à des singes. Mais il fallut attendre la découverte d'ENDERS, permettant la croissance et le développement des virus dans les cultures de tissus embryonnaires, pour pouvoir mieux caractériser les agents de la poliomyélite, et mettre au point des procédés de fabrication de vaccins dont on pourra contrôler l'effet par la recherche des anticorps neutralisants.

I - VACCINS EMPLOYES.

A - Les vaccins vivants atténués.

Préconisés par A. SABIN et H. KOPROWSKI, ils sont administrés par voie buccale, les souches virales poliomyélitique sont atténuées et rendues apathogènes par une série de mutations tout en conservant leurs propriétés antigéniques.

Jusqu'à ces derniers temps la vaccination per orale simultanée contre les trois types de virus n'était pas possible, en raison des phénomènes de concurence vitale qui excluaient au profit d'une souche prédominante les souches associées, ce qui nécéssitait l'ingestion successive à un mois d'intervalle (représentant la durée moyenne d'élimination du virus) de trois vaccins monovalents. Le long délai d'immunisation contre les trois types (trois à cinq mois) représentait donc un inconvénient majeur.

Il existe actuellement un vaccin vivant atténué trivalent qui donne une immunisation rapide à des taux tout fait valables.

B - Les vaccins inativés.

Ils étaient encore jusqu'à une date toute récente, les seuls utilisés en France pour les vaccinations systématiques.

Ce sont des vaccins polyvalents, renfermant les trois antigènes préparés à partir des virus des trois types responsables des poliomyélites paralytiques.

Les vaccins monovalents sont préparés à partir des virus cultivés sur cellules rénales de singes puis inactivés, puis mélangés dans un second temps.

Les caractéristiques de préparation des vaccins inactivés ont été définis et résumées par P. LEPINE dans un tableau reproduit ci-dessous.

VACCINS	Américain	Français	Suédois
Auteur	J. SALK	P. LEPINE	S. GARD
Année (mise au point)	(1953 - 1955)	(1954 - 1955)	(1955 - 1957)
Cellules de culture	Reins de singe Rhésus	Reins de singe Cynocéphale	Embryon humain Rein de singe
Souches			
Type I	Mahoney	IP 1342	1423/54
Type II	MEF I	IP 1526	MEF I
Type III	Saukett	IP 1226	Saukett
Mélange final selon	Volume	Index antigénique	Volume
Proportion	3-3-3	4-3-3	3-1-2
Agent inactivant	Formol	Formol suivi de béta propiolactone	Formol +glycine
Durée inactivation	9 à 12 jours	72 heures	56 jours
Température début	37°	32°	25°
Température fin	37°	4°	25°
Séparation du virus	2 filtrations ultra fine avant et après	Physico chimique (tamisage)	1 filtration avant
Contrôle antigénicité sur	Singe	Poulet	Poulet

Le vaccin français comprend une souche de type I totalement dépourvue de virulence par voie sous cutanée et par voie intra cérébrale chez le singe, la souche 1342 qui possède par ailleurs une exellente valeur antigénique.

L'inactivation n'est pas due au formol mais à la bétapropiolactone. Le formol ajouté dans un premier temps à la suspension virulente sert à obtenir un mordançage de la particule virale. Après 40 heures de contact et alors que la suspension reste virulente, le formol est rigoureusement neutralisé, le titre de virulence mesuré, et l'inactivation est alors obtenue en deux heures en terminant à plus 4° ; ce qui permet en 72 heures une inactivation complète sans dénaturation.

II - CONTROLE DE L'EFFICACITE VACCINALE.

L'éfficacité de la vaccination antipoliomyélitique éffectué sur un grand nombre de sujets, ne peut, en dehors des faits épidémiologiques que nous n'étudierons pas ici, être contrôlée qu'au moyen d'une réaction antigène - anticorps relativement facile à mettre en évidence et de réalisation pratique simple. Ce contrôle systématique des anticorps fût rendu possible par la mise au point par P. LEPINE et A. ROGER de la réaction cinétique de séro-neutralisation du virus poliomyélitique.

Principe : basé sur la destruction de cellules sensibles par les virus poliomyélitiques et sur le retard ou l'inhibition de cette destruction sous l'influence des anticorps.

A - Réalisation de la réaction.

1) Milieu

Le milieu de base est celui qui a été décrit par LEPINE en 1956 1957, sous le nom de milieu semi-synthétique à l'hydrolysat de caséine.

C'est une solution saline équilibrée de EARLE (1943) enrichie en glutamine, en cystéine et en vitamines du groupe B, conformément aux indications de EAGLE (1955). La solution renferme aussi les 13 acides aminés indispensables à la croissance des cellules de souche d'origine humaine,

tirés d'un hydrolysat enzymatique. Ce milieu de base est complété par addition de solutions tampons, de sérum et d'antibiotiques.

a) Les solutions tampons

Relativement interchangeables, elles sont au nombre de deux, l'une renferme un tampon volatil (solution au bicarbonate) et l'autre un tampon organique fixe (solution au Tris).

Ces deux solutions contiennent aussi du rouge de phénol qui sert d'indicateur de pH aux milieux définitifs.

- La solution de bicarbonate est celle qui a été originellement prévue pour le milieu de LEPINE (1956 - 1957). Elle doit être utilisée à raison de 40 ml par litre de milieu.

- Solution de Tris.

GOMORI (1946) a proposé le premier l'utilisation de trihydroxyméthyl amino méthane, ou Tris, comme tampon organique fixe. Son application aux cultures cellulaires est due à SWIN et PARKER (1955). On utilise la formule suivante :

Tris $(CH_2\ OH)_3 - C - NH_2$ PM = 121,4	15 g
ClH concentré	5,8 ml
Phénol sulfone phtaléine	0,200 g
Eau bidistillée	100 ml

Elle est employée à raison de 10 ml par litre de milieu.

b) Les sérums.

On peut indifféremment employer, pour les cultures, du sérum de veau ou de poulain.

Tous les sérums ne conviennent cependant pas, et tout particulièrement les sérums d'animaux qui ont été saignés trop souvent ; en outre chaque fois que l'on utilisera des sérums d'animaux dans les réactions de séro-neutralisation, on devra éliminer préalablement ceux qui contiendront des anticorps ou des inhibiteurs. Chaque lot individuel de sérum doit donc être l'objet d'essais systématiques avant usage.

c) Les antibiotiques

On emploie ordinairement l'association de 200.000 unités Oxford de pénicilline et de 50 mg de streptomycine par litre de milieu.

Après leur préparation, les milieux sont stérilisés sur bougie Chamberland L_3 ou sur filtre Seitz EKS.

2) Souche cellulaire.

C'est la souche KB, qui provient d'un épithélioma buccal humain et dont la sensibilité aux virus poliomyélitiques à été démontrée par EAGLE en 1956.

Cette souche est entretenue, directement au contact du verre en boites de ROUX de un litre en verre Pyrex hermétiquement bouchées et en présence de 100 ml de milieu au bicabonate avec une concentration de sérum animal de l'ordre de 16,6 %.

Après 5 à 7 jours d'incubation à plat à l'étuve à 37°C, on observe le développement d'une culture en nappe homogène à la surface du verre, au microscope le film cellulaire doit alors être continu et revétir un aspect franchement épithélial ; les cellules dont les limites sont nettement visibles, doivent être claires, pourvues d'un seul noyau et ne présenter aucun symptôme de dégénérescence.

Elles sont alors utilisables soit pour le passage en série à de nouvelles boites de ROUX, soit pour les réactions de séro-neutralisation.

Dans les deux cas, on rejette d'abord le milieu contenu dans les boites, puis on décolle les cellules et on les sépare les une des autres par trypsination selon le procédé de DUBECCO et VOGT (1954). A cet effet, on peut utiliser une trypsine purifiée employée en solution dans du liquide de HANKS à raison de 10 ml de trypsine à 3 % par boite de ROUX.

Pour l'entretien des souches, la numération des suspensions est inutile, il suffit de centrifuger le liquide de trypsination à 1000 tours minute, pendant 5 minutes, de recueillir le culot cellulaire, de le remettre en suspension et de l'ensemencer dans deux à troix nouvelles boites de ROUX avec 100 ml de milieu neuf.

3) Souches de virus.

Tous les virus poliomyélitiques de type parfaitement connu sont utilisables, quelle que soit leur origine, qu'ils aient été obtenus sur cellules de souche ou sur cellules de première explantation, à condition que leur titre atteigne 10^6.

Cependant il est commode de préparer également les virus sur cellules KB, en employant des souches standards.

Après avoir trypsiné les cellules provenant de boites suffisament riches, on procède à leur numération selon le procédé de SANFORD (1951) puis on prépare une suspension de 800.000 cellules par ml, cette suspension étant effectuée dans du milieu au bicarbonate contenant 16,6 % de sérum dépourvu d'anticorps.

On ensemence 100 ml de cette suspension dans une boite de ROUX de un litre, on y ajoute 1 ml de suspension de virus titrant environ 10^6 et on place la boite à plat à l'étuve à 37°C.

On assiste rapidement au collage des cellules sur le verre, et à un début de multiplication, mais après environ 2 jours, les cellules sont brusquement détruites ce qui provoque le décollement total du film cellulaire.

On récolte le liquide, on le centrifuge à 300 tours/mn pendant 10 mn pour éliminer les débris cellulaires, on répartit en ampoules et on stocke à - 20°C.

a) Titrage des virus.

Les titrages doivent être faits dans les conditions même de la réaction, ils resteront valables plusieurs mois, en raison de la grande stabilité des virus polio à basse température.

On fera d'abord des dilutions de virus régulièrement échelonnées de 0,5 Log en 0,5 Log de 10^{-1} à $10^{-8,5}$ en ayant soin de changer de pipette entre chaque dilution et en utilisant exclusivement du milieu au Tris sans sérum.

On distribuera ensuite 0,45 ml du liquide correspondant à chaque dilution dans des tubes de Kalm en verre neutre verticalement disposés en employant 6 à 8 tubes par dilution.

On porte les tubes pendant 3 heures à 37°C puis on distribue dans chaque tube 0,25 ml d'une suspension de cellules à 100.000 cellules par ml (également réalisée dans du milieu au Tris sans sérum). Enfin on agite vigoureusement les portoirs.

On laisse les cellules au contact du virus pendant 1/2 heure à la température du laboratoire puis on ajoute 0,25 ml de milieu au Tris avec sérum (sérum : 40 parties, milieu au Tris : 100 parties) ce qui correspond à une concentration finale de 9 % de sérum animal. On agite de nouveau et l'on revouvre la surface libre du liquide avec 0,4 ml d'huile de vaseline stérile... Il ne reste plus qu'à mettre les portoirs à l'étuve à 37°C.

Lectures : Il est indispensable de faire deux lectures, la première aura lieu après 48 heures d'incubation, la seconde après 72 heurs.

On recherche l'effet cytopathogène des virus poliomyélitiques par observation directe des cellules au microscope inversé (type microscope de Leitz) avec un grossissement de l'ordre de 60 à 100 fois.

b) Détermination du titre utilisable.

On choisira pour les réactions de séro-neutralisation la plus faible quantité de virus permettant d'obtenir une lyse homogène totale au 3e jour dans l'ensemble des 6 à 8 tubes correspondants.

Cette quantité de virus ne doit en revanche avoir provoquée aucune destruction des cellules au deuxième jour, dans les mêmes tubes.

B - Technique d'emploi de la réaction de séro-neutralisation.

Comme le dosage des virus, la réaction se pratique dans des tubes de Kalm verticaux.

Pour chaque sérum, on utilise 7 tubes de Kalm, 2 tubes réactifs par type de virus et un témoin sérum dans lequel le virus sera remplacé par une quantité équivalente de milieu de Tris sans sérum.

Les tubes réactifs recevront donc : le virus, le sérum à examiné préalablement inactivé par chauffage à 56°C pendant 1/2 heure, et les cellules ; alors que le témoin sérum recevra simplement le sérum examiné et les cellules.

1) Disposition de la réaction.

On commence par distribuer 0,45 ml de chaque virus à la dilution convenable dans les tubes correspondants à chaque type.

Dans le témoin sérum, on distribue de la même façon 0,45 ml de milieu au Tris sans sérum.

On ajoute ensuite 0,05 ml de sérum à examiner dans chacun des 7 tubes correspondants à chaque sérum, le sérum examiné se trouve ainsi dilué à 1/10 dans la suspension de virus.

On agite vigoureusement les portoirs et on porte pendant 3 heures à 37°C, puis on ajoute dans tous les tubes 0,25 ml d'une suspension de cellules à 100.000 cellules par ml.

On laisse 1/2 heure à la température du laboratoire et on ajoute encore 0,25 ml de milieu au Tris à 9 % de sérum.

On recouvre d'huile de vaseline et on porte à 37°C jusqu'au moment des lectures.

2) Témoins.

On peut adjoindre aux tubes contenant les sérums examinés :

- Des témoins cellules (qui reçoivent 0,25 ml de milieu au Tris sans sérum).

- Mais il est indispensable de coupler à la réaction ; des témoins virus (8 à 10 par type et par dose) chacun d'eux reçoit 0,45 ml de virus, 0,25 ml de suspension cellulaire et 0,25 ml de milieu au Tris avec sérum.

3) Lectures.

Après 48 heures, on peut lire tous les tubes de la réaction et apprécier ainsi l'état d'ensemble des cellules avant tout effet cytopathogène.

Mais ce sont surtout les témoins virus qu'il faut absolument lire à cette date : au deuxième jour, les cellules doivent être rigoureusement indemnes, dans les témoins virus qui renferme la quantité utilisée pour la réaction.

Après 72 heures, la destruction des cellules doit être complète dans l'ensemble des témoins virus contenant la dose correcte de virus.

Si la marche de la destruction cellulaire, ainsi contrôlée, par les témoins a été normale ; on procède sans plus attendre à la lecture de tous les tubes réactifs.

Les sérums doivent être consitérés comme positifs contre un type de virus, seulement s'ils protègent les cellules dans les 2 tubes réactifs correspondants à ce type ; ils sont considérés comme négatifs dans le cas contraire (même si les cellules sont détruites dans l'un seulement des deux tubes réactifs).

Chaque fois qu'il y aura une destruction complète des cellules avec les 3 types de virus en présence d'un sérum donné ; on examinera le témoin sérum où les cellules devront être régoureusement intactes. La destruction des cellules ne saurait, en effet avoir aucune signification spécifique dans les tubes réactifs, si le sérum étudié est par lui même cytopathogène.

C - Dosage quantitatif.

Le principe de la réaction reste le même, mais en partant du sérum pur on effectuera une dilution de ce sérum suivant une progression géométrique de raison 2 de 1 à 1/1024. La dilution sérique au moment du contact avec le virus s'échelonnera donc de 1/10 à 1/10240.

ooOoo

CHAPITRE II

ETUDE SYSTEMATIQUE DE L'IMMUNISATION

EFFICACITE DU VACCIN INACTIVE LEPINE

Les recherches que nous nous proposons d'entreprendre ont comme base les résultats de l'enquête poursuivie au centre de vaccination antipoliomyélitique à l'hôpital Hérold pendant 6 années de 1959 à 1964.

I - TECHNIQUE DE VACCINATION ET CONTROLE D'ANTICORPS.

Tout candidat à la vaccination subit une prise de sang pour l'étude de l'immunisation spontanée par la réaction cinétique de séro neutralisation de LEPINE et ROGER.

Si les anticorps à l'égard des 3 types de virus sont présents dans le sérum, la vaccination n'est pas entreprise et un nouveau contrôle est pratiqué 1 an et 3 ans plus tard.

Dans le cas contraire, trois injections de 1 ml de vaccin LEPINE sont entreprises à 1 mois d'intervalle et une nouvelle prise de sang pour la recherche des anticorps est éffectuée avant l'injection de rappel de 1,5 ml qui a lieu un an plus tard.

Dans le cas d'immunisation incomplète avant rappel, un nouveau contrôle d'anticorps a lieu 4 mois après celui-ci. Un second rappel est pratiqué 1 an après le premier, en même temps une prise de sang est éffectuée pour la recherche de l'immunité.

Ceux qui, à ce contrôle, possèdent les 3 anticorps, sont encore contrôlés 2 ans plus tard. Les autres insuffisamment vaccinés subissent un

contrôle 4 mois après et sont revaccinés entièrement s'ils n'ont qu'un seul ou aucun anticorps. S'ils ont deux anticorps, ils reçoivent seulement une nouvelle injection de rappel.

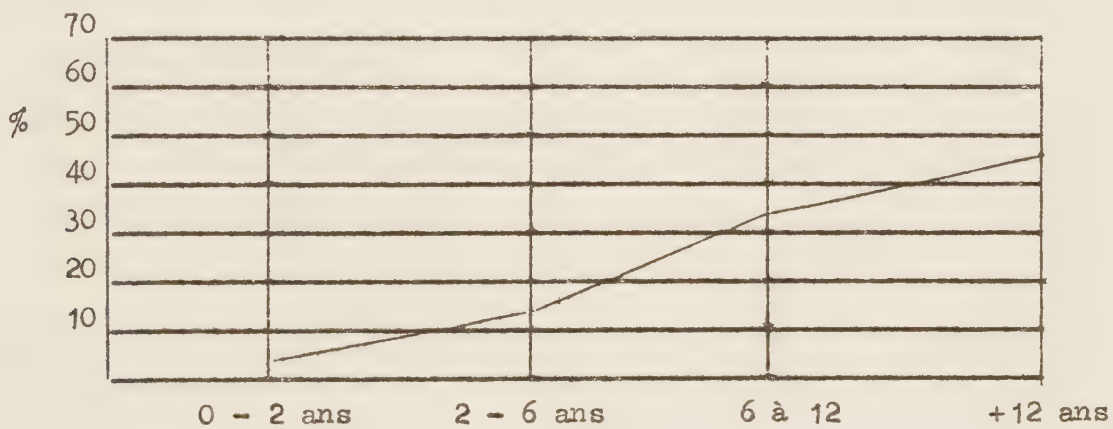
II - RESULTATS.

7106 enfants se sont présentés au Centre. Parmi ceux-ci 2039 n'ont pu être contrôlés au départ, ayant déjà reçu une ou deux injections de vaccin au dehors ; de ce groupe, 1003 ont pu être suivis et contrôlés après vaccination. 5067 enfants ont donc eu un dosage d'anticorps avant la vaccination.

A - Enfants ayant une immunité spontanée.

Sur 5067 enfants, 1648 étaient totalement immunisés spontanément soit 32,5 %, et ont été écartés de la vaccination sous réserve d'un contrôle d'anticorps un an après.

L'immunité naturelle est exceptionnelle avant 2 ans (3 sur 164) rare entre 2 et 6 ans (13,5 % des enfants), elle va croissant de 6 à 12 ans (33,9 %) et atteint 47 % au delà de 12 ans.



Courbe de répartition de l'immunité naturelle en fonction de l'âge.

B - Résultats de la vaccination.

3419 enfants ont été vaccinés après dosage des anticorps. De ce groupe 2335 ont pu être suivis, et en comparant les 3 groupes de sujets.

Groupe 0 : aucun anticorps avant vaccination

Groupe I : un anticorps

Groupe II : deux anticorps.

On peut grouper les résultats de la vaccination dans le tableau suivant :

	Groupe 0			Groupe I			Groupe II			TOTAL		
	Vaccinés	Immunisés	%	Vaccinés	Immunisés	%	Vaccinés	Immunisés	%	Vaccinés	Immunisés	%
Avant I° rappel	470	202	42,9	817	584	71,4	1048	976	93,1	2335	1762	75,4
4 mois après le 1° rappel	185	161	87	182	170	93	47	44	93,6	414	375	90,6
1 an après le 1° rappel (avant 2e rappel)	292	262	89,7	555	544	98	715	699	97,7	1562	1505	96,3
2 ans après le 2e rappel	166	141	84,9	248	240	96,7	336	329	97,9	750	710	94,6

1) Avant premier rappel.

On constate les pourcentages suivants d'éfficacité :

Groupe 0 = 42,9 % des sujets ont acquis l'immunité

Groupe I = 71,4 % des sujets ont acquis l'immunité

Groupe II = 93,1 % des sujets ont acquis l'immunité.

Soit avant premier rappel un pourcentage global d'éfficacité de 75,4 %, taux très voisin de celui de 71 % donné par R. MARTIN et ses collaborateurs. En d'autres termes, 1 vacciné sur 4 n'a pas acquis d'immunité après la première vaccination.

L'acquisition de l'anticorps de type III parait relativement plus difficile : 303 enfants sur 573 immunisés n'ont pu l'acquérir soit un pourcentage de 53 %, alors que 22,5 % des enfants n'ont pas acquis l'anticorps de type I et 5,7 % l'anticorps de type II voir tableau ci-dessous.

Groupes	Anticorps présents avant vaccination			Nombre d'enfants vaccinés	Anticorps présents un an après la vaccination								Pourcentage de succès
	Anticorps I	Anticorps II	Anticorps III		— — —	+ — —	— + —	— — +	+ + —	+ — +	— + +	+ + +	
0	-	-	-	470	18	12	44	8	141	11	34	202	42,9
I	+	-	-	276		7			83	6	2	178	71,4
	-	+	-	221			6		31		4	180	
	-	-	+	320			1	11	7	11	64	226	
II	+	+	-	377	1				39	1	4	332	93,1
	+	-	+	358					1	2	13	342	
	-	+	+	313					1	2	8	302	
TOTAL				2335	19	19	51	19	303	33	129	1762	75,4

Efficacité du vaccin 10 mois après les 3 premières injections.

- Enfants non ou insuffisament immunisés avant le 1° rappel.

Pour ces sujets, un contrôle a été éffectué 4 mois après ce rappel. Sur 414 sujets de cette catégorie, 375 soit 90,6 % ont alors acquis leur immunité, se répartissant ainsi selon les groupes d'enfants classés suivants les anticorps présents avant la vaccination :

Groupe 0 : 87 % de succès
Groupe I : 93 % de succès
Groupe II : 93,6 % de succès.

2) Contrôle des vaccinés un an après le 1er rappel.

Afin d'éprouver la durée de l'immunité vaccinale, un nouveau contrôle a été éffectué un an après le premier rappel et une deuxième injection de rappel pratiquée en même temps afin de renforcer ou de conserver l'immunité vaccinale.

Groupes	Anticorps présents avant vaccination			Nombre d'enfants vaccinés	Anticorps présents 1 an après le 1° rappel								Pourcentage de succès
	Anticorps I	II	III		— — —	+ — —	— + —	— — +	+ + —	+ — +	— + +	+ + +	
0	-	-	-	292					28		2	262	89,7
I	+	-	-	178					4			174	98
	-	+	-	156					2		1	153	
	-	-	+	221					2		2	217	
II	+	+	-	237					5			232	98,4
	+	-	+	283					2		8	273	
	-	+	+	195			1					194	
TOTAL				1562			1		43		13	1505	96,3

Efficacité du vaccin un an après premier rappel.

Des résultats d'éfficacité selon les différents groupes d'enfants classés suivant les anticorps présents avant la vaccination sont alors :

Groupe 0 : 89,7 %
Groupe I : 98 %
Groupe II : 98,4 %

L'immunité est alors presque totale, soit 96,3 % d'éfficacité 57 enfants sur 1505 ne sont pas immunisés, et 43 de ces sujets n'ont pu garder l'immunité pour l'anticorps de type III.

Ces taux sont très voisins du taux global de 96 % de "triples positifs" trouvé un an après le premier rappel par R. MARTIN et ses collaborateurs.

Ainsi, on peut dire, avec toute fois une petite réserve pour les sujets du groupe O qui se sont moins bien immunisés qu'une immunisation presque totale après la première vaccination complétée par une injection de rappel au bout d'un an, permet de conserver un an plus tard une immunité satisfaisante.

3) Contrôle deux ans après le second rappel.

Tous les enfants suivis ont été convoqués systématiquement pour un contrôle biologique de vaccination, deux ans après la seconde injection de rappel, laquelle a été pratiqué un an après le premier rappel ; donc au total 4 ans après la première injection de vaccin.

Les résultats de ce contrôle donnent les pourcentages d'éfficacité suivants :

40 enfants sur 750 sont insuffisament vaccinés, soit une efficacité vaccinale de 94 %.

Dans les mêmes délais, R. MARTIN et ses collaborateurs ont trouvé 98 % de sujets "triples positifs", mais il faut remarquer que la population étudiée par cet auteur avait une moyenne d'âge plus élevée que celle étudiée dans la présente étude.

L'éfficacité de la vaccination, deux ans après second rappel est toujours fonction de la présence d'anticorps avant toute injection et se répartit ainsi :

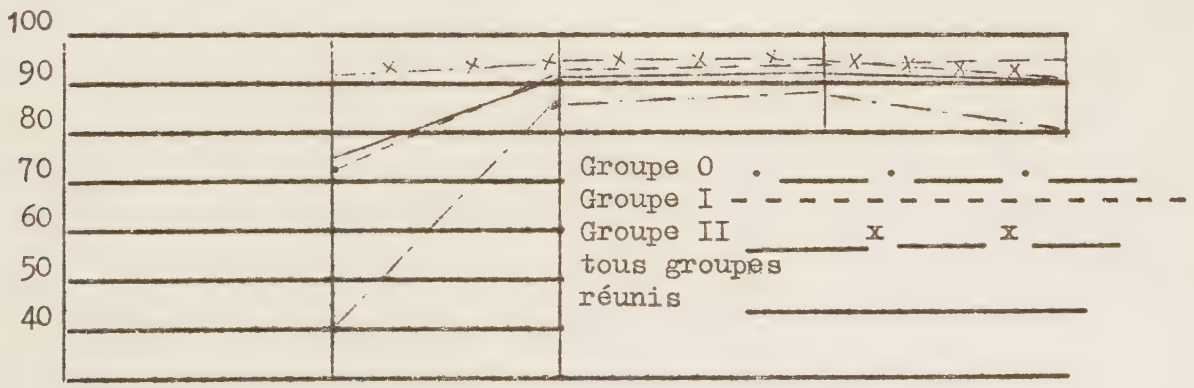
Groupe O : 84,9 %
Groupe I : 96,7 %
Groupe II : 97,9 %

Groupes	Anticorps présents avant vaccination			Nombre d'enfants vaccinés	Anticorps présents 2 ans après le second rappel								Pourcentage de succès
	Anticorps I	II	III		—	+—	—+-	—+	++-	+—+	—++	+++	
0	-	-	-	166			3		18	3	1	141	84,9
I	+	-	-	88					5			83	96,7
	-	+	-	66					2			64	
	-	-	+	94						1		93	
II	+	+	-	112					5			107	97,9
	+	-	+	127						1		126	
	-	+	+	97							1	96	
TOTAL				750			3		30	5	2	710	94,6
									40				

Efficacité du vaccin deux ans après deuxième rappel.

C'est donc toujours parmi les enfants n'ayant aucun anticorps avant vaccination, que l'immunisation se fait le moins favorablement.

E - Résultats globaux de la vaccination.



Courbe d'immunisation en fonction des anticorps existants avant vaccination.

Nous constatons que l'injection de rappel fait faire un bond à l'immunisation des enfants non encore complètement immunisés avant celle-ci (90,6 % de succès) et maintient presque complètement l'immunisation de ceux qui l'étaient correctement (96,3 % de succès) résultat contrôlé un an après le premier rappel.

Il reste, après vaccination, selon la technique décrite et à la suite de deux rappels, un petit groupe de sujets "réfractaires" de l'ordre de 5 p. 100 des vaccinés qui vont faire l'objet d'une étude plus approfondie.

ooOoo

CHAPITRE III

ETUDE DES SUJETS NON IMMUNISES APRES VACCINATION COMPLETE

L'étude que nous allons entreprendre, porte sur des sujets ayant subi une vaccination complète suivant la technique précédement décrite soit :

- 3 injections à un mois d'intervalle.
- 1 premier rappel un an après la première injection.
- 1 second rappel, un an après le premier.

Sur les quarante enfants de l'étude précédente, qui n'avaient pas acquis leurs anticorps contre les trois types de virus après vaccination complète, 28 seulement ont été étudiés plus complétement, 12 n'ayant pas répondu à notre convocation.

Nous ajouterons à cette étude :

1° - 21 sujets, dont le dosage d'anticorps avant toute vaccination n'a pu être fait, et chez qui il manquait un ou plusieurs anticorps après vaccination complète.

2e - 10 sujets, chez qui le dosage d'anticorps pratiqué au moment du second rappel (contrôlant l'éfficacité du premier rappel) montre un déficit dans l'immunisation et chez qui un nouveau dosage pratiqué quatre mois après ce second rappel a montré un déficit persistant en anticorps.

Au total 59 sujets, dont l'âge varie de 5 à 19 ans ont été étudiés.

Cette étude comprend :

- Un dosage quantitatif des anticorps antipoliomyélitiques après second rappel.

- Un groupe sanguin, avec dosage quantitatif des hémagglutinines.

- Une électrophorèse simple sur papier, pratiquée environ quatre semaines après le dosage d'anticorps.

- Pour 37 sujets, une immuno électrophorèse a pu être pratiquée dans les mêmes conditions que l'électrophorèse.

- 29 sujets ont subi en outre, à titre comparatif, un dosage quantitatif d'anticorps diphtériques pratiqué suivant la méthode de René TRIAU (Institut MERIEUX, mai 1964) en cellules KB, dont le principe sera donné plus loin.

Etant donné l'étalement des âges (5 à 19 ans) ; des sujets témoins ont été choisis pour la comparaison statistique des résultats d'électrophorèse et d'immuno électrophorèse.

Nous avons recruté :

a) 31 témoins d'électrophorèse se trouvant dans des conditions expérimentales similaires aux sujets d'étude ; c'est à dire :

- de même âge

- ayant subi une vaccination complète et acqui une immunité totale deux ans après le second rappel vis à vis des trois types de virus.

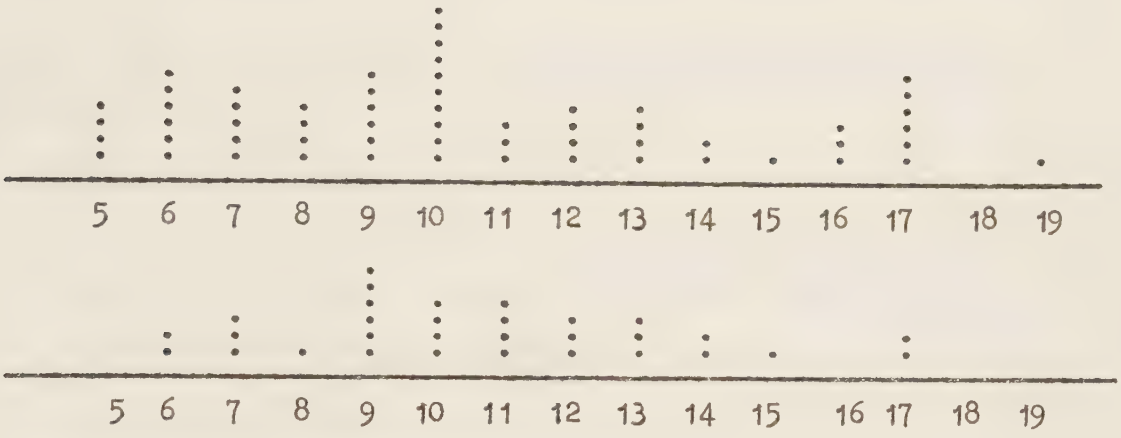
b) 20 témoins d'immuno électrophorèse : sujets de même âge que les sujets d'étude, mais n'ayant subi aucune vaccination.

I - ETUDE COMPARATIVE DES AGES DES SUJETS D'ETUDE ET DES SUJETS TEMOINS D'ELECTROPHORESE.

Les sujets d'étude ont un âge qui varie de 5 à 19 ans.

Les sujets témoins de 6 à 17 ans.

La répartition des âges, est donnée par les polygones de fréquence suivants :



Ce qui donne respectivement :

Pour les sujets d'étude — Amplitude : 5 - 19
Moyenne : 10,39 soit 10 ans 3 mois

Pour les sujets témoins — Amplitude : 6 - 17
Moyenne : 10,69 soit 10 ans 6 mois

Les moyennes d'âge de 10 ans 3 mois et de 10 ans 6 mois sont donc comparables. Ces polygones de fréquence montrent chez les sujets d'étude, un pic de fréquence aux alentours de 9 - 10 ans (valeurs proches de la moyenne) que l'on retrouve chez les sujets témoins.

Les deux classes de sujets pris en considération sont donc comparables du point de vue âge.

II - ETUDE DE L'EVOLUTION DE L'IMMUNISATION DES SUJETS.

Les dosages d'anticorps successifs pratiqués tout au long de la vaccination, permettent de suivre l'évolution de l'immunisation de ces 59 sujets.

Nous reproduisons ci-dessous un tableau récapitulatif de cette évolution.

L'étude de ces tableaux montre que la vaccination complète de ces sujets "réfractaires" ne leur permet d'acquérir, qu'en partie, une immunité contre un ou deux types de virus et cela à des taux souvent très faibles.

A - Sujets ayant subi un contrôle qualitatif d'anticorps avant vaccination.

1) Sujets triples négatifs.

Les 22 sujets triples négatifs, avant toute vaccination ne dépassent guère le taux de 1/100 après vaccination complète, ainsi :

- 3 sur 22 pour l'anticorps du type I
- 7 sur 22 pour l'anticorps du type II

dépassent le taux du centième.

Résultat encore plus net, si l'on ne prend en considération que les seuls 15 sujets triples négatifs de l'étude.

Noms	avant vacc.	avant 1°Rap.	avant 2°Rap.	2A ap. 2°Rap.	Quantitatifs I	II	III	Groupe sanguin
B..... M.Christine	- - -	- + -	+ + +	+ + -	1/40	1/80	-	A Rh +
B..... M. Hélène	- - -	- + -	+ + +	+ + -	1/20	1/80	-	O Rh +
M..... Georges	- - -	- + -	+ + +	+ + -	1/20	1/60	-	B Rh +
P..... J. Claude	- - -	- - -	+ + -	- + -	-	1/40	-	Anti A 1/2 O Rh + Anti B 1
M..... J. Yves	- - -	+ + +	+ + +	+ + -	1/80	1/80	-	A Rh +
D..... Corinne	- - -	+ + -	+ + +	+ + -	1/10	1/15	-	ANTI A 1/8 O Rh + Anti B I/64
S..... Dominique	- - -	- - -	+ + -	+ + -	1/60	1/160	-	Anti A 1/32 O Rh + Anti B 1/16
S..... Dominique	- - -	- + -	+ + -	+ + -	1/80	1/960	-	Cddee A Rh - Anti B 1/8
H..... Jacques	- - -	- + -	+ + +	- + -	-	1/15	-	Anti A 1/8 O Rh - Anti B 1/32
G..... Denis	- - -	- - +	+ + +	+ - +	1/30	-	1/40	Anti A I/8 O Rh + Anti B 1/8
M..... Claude	- - -	+ + -	+ + -	+ + -	1/30	1/60	-	Anti A 1/32 O Rh + Anti B 1/16
T..... Gilles	- - -	+ + -	+ + +	+ + -	1/160	1/80	-	O Rh +
F..... Alain	- - -	+ + -	+ + +	+ + -	1/60	1/160	-	Anti A 1/16 O Rh + Anti B 1/16
B..... Sylvie	- - -	+ + -	+ + -	+ + -	1/30	1/60	-	A Rh + Anti B 1/32
C..... Fabienne	- - -	- + -	- + +	- + +	-	1/30	1/15	O Rh +
N..... Jean	- + -	+ + +	+ + +	+ + -	1/80	1/1920	-	A Rh + Anti B 1/16
N..... J.Jacques	+ - +	+ + +	+ + +	+ - +	1/1280	-	1/240	Anti A 1/16 O Rh + Anti B 1/8
B..... J.Pierre	+ - -	+ + -	+ + -	+ + -	1/320	1/20	-	A Rh + Anti B 1/16
C..... Christine	- + -	+ + +	+ + +	+ + -	1/60	1/40	-	Anti A 1/16 O Rh + Anti B 1/32
P..... Michel	+ + -	+ + +	+ + +	+ + -	1/480	1/1920	-	A Rh + Anti B 1/16
L..... Guy	+ - -	+ + -	+ + +	+ + -	1/1280	1/240	-	A Rh + Anti B 1/8
F..... Annie	- - +	+ + +	+ + +	+ - +	1/80	-	1/480	A Rh + Anti B 1/64
B..... Serge	+ - -	+ + -	+ + +	+ + -	1/320	1/60	-	O Rh +
G..... Marlène	+ + -	+ + -	+ + -	+ + -	1/320	1/1920	-	Anti A 1/64 O Rh + Anti B 1/32
L..... Gérard	+ + -	+ + -	+ + -	+ + -	1/620	1/1280	-	Anti A 1/32 O Rh + Anti B 1/16
M..... Danielle	- + -	+ + -	+ + -	+ + -	1/120	1/240	-	Anti A 1/32 O Rh + Anti B 1/64
M..... Jacques	+ + -	+ + -	+ + +	+ + -	1/80	1/80	-	Anti A 1/8 O Rh + Anti B 1/8

Noms	avant vacc.	avant 1°Rap.	avant 2°Rap.	2A ap 2°Rap.	Quantitatifs I	II	III	Groupe sanguin
G..... Josette	- + -	+ + -	+ + -	+ + -	1/80	1/1280	-	B Rh + Anti A1/128
C..... Thierry		+ + -	+ + +	+ + -	1/80	1/640	-	O Rh +
C..... Loïc		+ + -	+ + +	+ + -	1/640	1/120	-	A Rh +
P..... Pierre		+ + +	+ + +	+ + -	1/240	1/60	-	B Rh +
B..... Christian		+ + -	+ + +	+ + -	1/30	1/120	-	Anti A1/32 O Rh + Anti B1/16
B..... Alain		+ + -	+ + -	+ + -	1/40	1/120	-	Anti A1/64 O Rh + Anti B1/32
O..... Alain		+ + +	+ + +	+ + -	1/3480	1/60	-	Anti A1/32 O Rh + Anti B1/8
P..... Gérard		+ + -	+ + +	- + -	-	1/20	-	Anti A1/8 O Rh + Anti B1/8
T..... Joëlle		+ + -	+ + +	+ + -	1/40	1/80	-	Anti A1/16 O Rh + Anti B1/32
G..... Louise		+ + -	+ + -	+ + -	1/40	1/2560	-	A Rh + Anti B1/16
M..... Martine		+ + -	+ + +	+ + -	1/480	1/80	-	A Rh - Anti B1/16
M..... Michel		+ + +	+ + -	+ + -	1/40	1/120	-	A Rh + Anti B1/16
D..... Christine		+ + +	+ + +	+ + -	1/20	1/640	-	O Rh +
L..... Christian		+ + +	+ + -	+ + -	1/80	1/160	-	Anti A1/16 O Rh + Anti B1/16
B..... Christian		+ + +	+ + +	+ + -	1/40	1/60	-	Anti A1/16 O Rh + Anti B1/2
V..... Bruno		+ + +	+ + +	+ + -	1/60	1/320	-	A Rh +
C..... Pierre		+ + +	+ + +	+ + -	1/80	1/160	-	ccddee A Rh + Anti B1/64
L..... Yves		+ - -	+ + +	+ - +	1/120	-	1/20	A Rh + Anti B1/64
V..... Pascal		+ + -	+ + -	+ + -	1/15	1/80	-	Anti A1/4 O Rh + Anti B1/8
B..... Sylvie		+ + -	+ + -	+ + -	1/320	1/120	-	Anti A1/16 O Rh + Anti B1/16
L..... Annie		+ + -	+ + -	+ + -	1/80	1/60	-	A Rh + Anti B1/16
Ch..... Daniel		- + -	+ + -	+ + -	1/10	1/20	-	A Rh + Anti B1/32

Noms	avant vacc.	avant 1°Rap.	avant 2°Rap.	4 mois après 2°Rap.	Quantitatifs I	II	III	Groupe sanguin
L..... Geneviève	+ + -	+ + -	+ + -	+ + -	1/240	1/480	-	Anti A1/32 O Rh + Anti B1/8
B..... Josette	+ + -	+ + -	+ + -	+ + -	1/480	1/160	-	A Rh + Anti B1/16
H..... Monique	+ - -	+ + -	+ + -	+ + -	1/320	1/40	-	O Rh +
K..... Martine	- - -	+ + -	+ + -	+ + -	1/480	1/640	-	A Rh + Anti B1/8
G..... Bernard	- - -	- + -	+ + -	+ + -	1/80	1/120	-	A Rh + Anti B1/16
Sch... Philippe	- - -	+ + +	+ + -	+ + -	1/60	1/120	-	Anti A1/8 O Rh + Anti B1/16
P..... Hervé	- - -	+ + +	+ + -	+ + -	1/960	1/640	-	ccddee A Rh + Anti B1/8
Z..... Pascal	- - -	- - -	+ + -	- + -	-	1/10	-	A Rh + Anti B1/16
B..... Laurent	- - -	+ + +	+ + -	+ + -	1/40	1/160	-	Anti A1/16 O Rh + Anti B1/128
S..... Guy	- - -	- - -	+ + -	+ + -	1/40	1/30	-	A Rh + Anti B1/16

précédente (dosage quantitatif d'anticorps 2 ans après second rappel).

- 1 sur 15 pour le type I
- 3 sur 15 pour le type II

dépassent le taux du centième.

On connait pourtant la très bonne valeur antigénique du vaccin LEPINE pour les types I et II. (LEPINE P. Paris 1959, Annales de l'Institut Pasteur, 97 n° 6 pp. 781 - 783).

2) Sujets présentant une immunité naturelle contre un ou deux types de virus, avant vaccination.

Les sujets présentant une immunité naturelle, contre un ou deux types de virus, ont après vaccination complète des taux d'anticorps assez élevés dépassant largement le centième ; ainsi :

- 11 sur 16 pour le type I
- 9 sur 16 pour le type II

dépassent le taux du centième.

Les 2 sujets ayant le type III avant vaccination, le conserve à des taux respectifs de 1/240 et 1/480.

Le taux des anticorps acquis par ces sujets, après vaccination complète, confirme le fait bien connu que l'éfficacité vaccinale antipoliomyélitique est fonction de l'immunité préexistante.

B - Sujets n'ayant pas subi de contrôle d'anticorps avant vaccination.

Pour ces 21 sujets, les taux d'anticorps qui dépassent le centième, après vaccination complète, sont en nombre restreint soit :

- 6 sur 21 pour le type I

- 10 sur 21 pour le type II

Le tableau ci-dessous résume les résultats de la vaccination en fonction de l'immunité préexistante.

En prenant : Groupe 0 : sans anticorps avant vaccination
Groupe I : un anticorps avant vaccination
Groupe II : deux anticorps avant vaccination
Groupe III : contrôle non fait avant vaccination

Groupes	Anticorps présents avant vaccination			Nombre d'enfants vaccinés	Anticorps présents après second rappel							
	Anticorsp I	II	III		---	+--	-+-	--+	++-	+-+	-++	+++
0	-	-	-	22			3		17	1	1	
I	+	-	-	4					4			
	-	+	-	4					4			
	-	-	+	1						1		
II	+	+	-	6					6			
	+	-	+	1						1		
	-	+	+									
III	NON FAIT			21			1		19	1		
TOTAL				59			4		50	4	1	

Sur les 4 sujets, chez qui, après vaccination complète il manque deux anticorps (du type I et III, - + -) 3 avaient été contrôlés avant toute injection et étaient triple négatif.

Sur les 4 sujets, chez qui, après vaccination complète il manque l'anticorps du type II (+ - +) 3 avaient été contrôlés avant vaccination et se répartissaient ainsi :

1 triple négatif

1 possédait l'anticorps du type III (- - +)

1 possédait deux anticorps du type I et III (+ - +)
la vaccination ne lui a donc rien apportée.

Un seul sujet n'a pas acquis l'anticorps de type I (- + -) il était triple négatif avant vaccination.

La majorité des sujets étudiés présentent après vaccination complète, un déficit en anticorps du type III soit 50 sur 59 qui ont une formule immunologique + + - vis à vis des anticorps antipoliomyélitiques.

Sur ces 50 sujets, 31 avaient subis un contrôle avant vaccination et se répartissaient ainsi :

17 étaient triple négatifs
8 possédaient un anticorps
4 de type I (+ - -)
4 de type II (- + -)

6 avaient déjà deux anticorps du type I et II (+ + -) et n'ont rien acquis après vaccination.

En résumé sur 59 sujets déficitaires en anticorps après vaccination complète :

4 ont un déficit pour les anticorps du type I et III (- + -)

4 ont un déficit pour l'anticorps du type II (+ - +)

1 a un déficit pour l'anticorps du type I (- + +)

50 ont un déficit pour l'anticorps du type III (+ + -)

III - ETUDE DE LA REPARTITION DES GROUPES SANGUINS CHEZ LES 59 SUJETS REFRACTAIRES A LA VACCINATION.

Sur les 59 sujets étudiés, 13 d'entre eux n'ont pas subi de dosage quantitatif d'iso-hémagglutinines, car ils possédaient déjà une carte de groupe sanguin et se répartissaient ainsi :

7 du groupe O Rhésus positif

4 du groupe A Rhésus positif

2 du groupe B Rhésus positif

Pour les 46 autres sujets ayant subi un dosage quantitatif d'iso-hémagglutinines, les taux respectifs se répartissent comme suit :

Groupe sanguin	Agglutinine	TAUX D'ISO HEMAGGLUTININES								TOTAL
		1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	
O Rhésus +	Anti A		•	•	•••••	::::: ::	::::: ::	••		23
	Anti B	•	••		::::: •	::::: ::	•••	••	•	
O Rhésus -	Anti A				•	•				2
	Anti B					•	•			
A Rhésus +	Anti B				•••	::::: :::::	••	•••		18
A Rhésus -	Anti B				•	•				2
B Rhésus +	Anti A								•	1
B Rhésus -	anti A									
AB Rhésus +										
Tous groupes réunis.										46

Les taux moyens d'iso hémagglutinines se situent donc alentours de 1/16 pour la plus grande majorité des cas, ce qui compte tenu du témoin employé prouve une antigénicité tout à fait correcte.

Au total, sur 59 sujets examinés, 32 sont du groupe O

dont 30 rhésus positif

2 rhésus négatif

24 sont du groupe A dont 22 rhésus positif et 2 rhésus négatif.

3 sont du groupe B rhésus positif.

Cette répartition est dans les normes des pourcentages trouvés dans les populations européennes, il ne semble donc pas exister de groupe sanguin prédisposant à un défaut d'immunisation antipoliomyélitique.

IV - ELECTROPHORESE.

Tous les sujets étudiés ont subi une électrophorèse simple sur papier, effectuée un mois après le prélevement de sang pratiqué en vue du

contrôle de vaccination deux ans après second rappel (temps de réponse nécessaire au Laboratoire de virologie et aux sujets après convocation).

Chaque sujet a été convoqué à jeun depuis au moins trois heures.

Le sang recueilli a été séparé en trois fractions :

- Une adressée au Laboratoire de l'Hôpital Hérold pour électrophorèse.
- Une pour groupe sanguin avec dosage des iso hémagglutinines.
- La dernière fraction décantée sur place, a été placée sous ampoule scellée et adressée au Centre Hayem pour immuno électrophorèse.

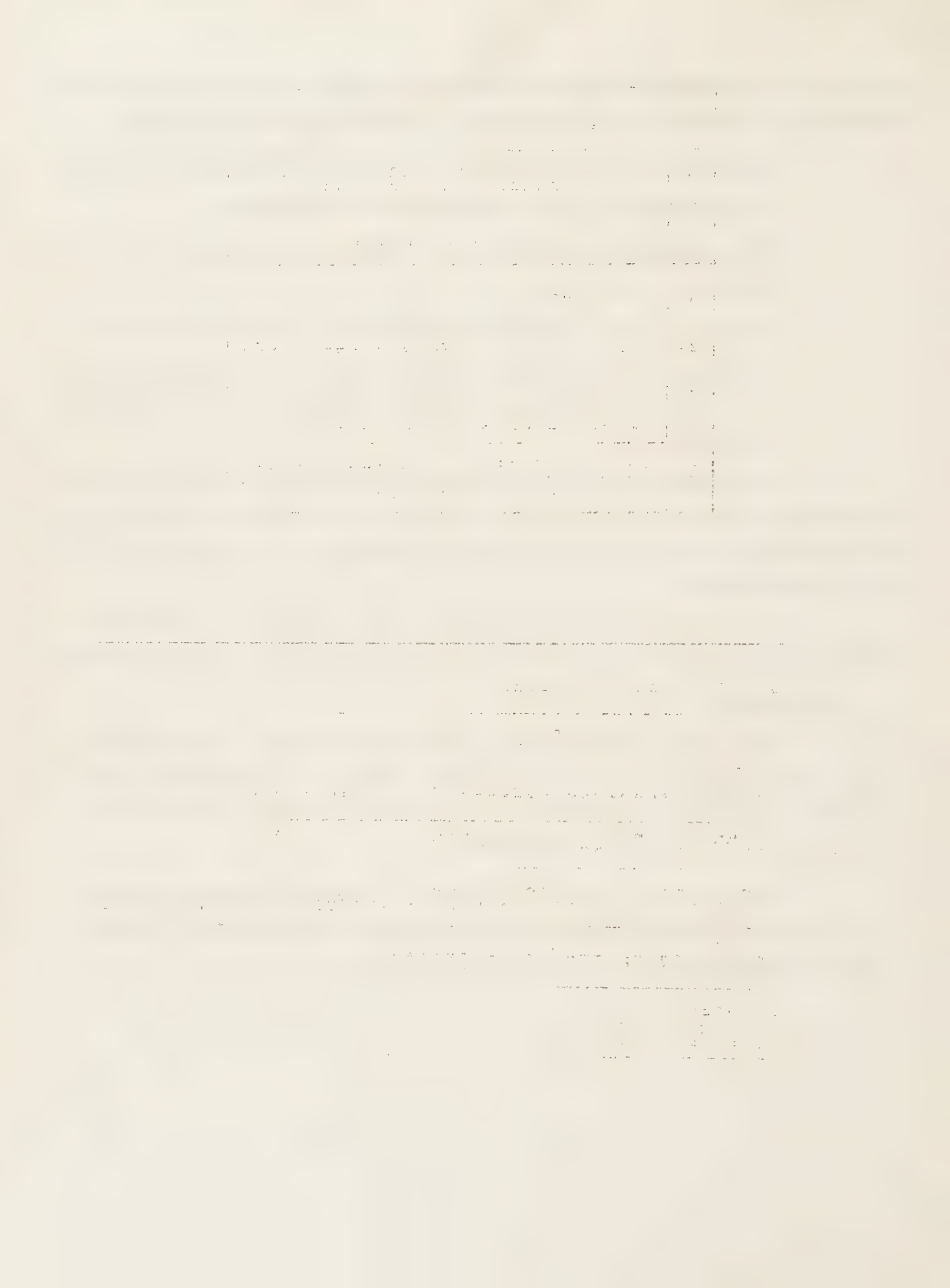
Le problème posé par ces enfants "réfractaires" à la vaccination antipoliomyélitique est de savoir s'il existe une modification qualitative ou quantitative des globulines sériques, susceptible d'entrainer un déficit dans l'immunisation.

L'étude consiste donc à comparer statistiquement les résultats d'électrophorèse des 59 sujets "réfractaires" à ceux des 31 sujets témoins.

A - Résultats.

Nous reproduisons dans les 2 tableaux suivants, les résultats bruts d'électrophorèse où les dosages sont donnés : en grammes par litre pour les protides ; en pourcentage de la quantité totale de globulines pour les α_1, α_2, β , et γ globulines.

L'ordre chronologique de lecture du tableau concernant les sujets d'étude est le même que celui qui concerne l'évolution de l'immunisation de ces sujets au cours de la vaccination.



SUJETS D'ETUDE

NOMS	Protides	Albumine	α 1	α 2	β	γ
B... Mc	76	73	2n5	7	8,5	9
B... Mh	65	65	2	12	8	13
M...G	82	70	2	11	9	8
P.... Jc	75	69,5	2	6	8,5	14
M... J	78	65,5	2	8	9,5	15
D... C	73	73	1,5	5	10	10,5
S... D	78,5	70	2,5	7	8,5	12
S... D	70	69	1	9	10,5	10,5
H... J	83	74	2	6	9	9
G... D	85	76,5	3	6	7,5	7
M... C	82	64,5	4	8,5	9	14
T... G	76	72	2	7	8	11
F... A	86	80	1,5	5	6,5	7
B... S	71	60	4	8,5	11,5	16
C... F	88	72	2	8	8,5	9,5
N... J	72	65	2	5	12	16
N... J	75	68	2	6	10	14
B... Jp	81	71	2	5	12	10
C... C	76,5	62	2	8,5	11,5	16
P... M	80	71,5	2	6,5	7	13
L... G	73	66,5	2	6	9,5	16
F... A	78	63	3	6,5	13	14,5
B... S	76	68	2	8,5	8	13,5
G... M	71	62	2	7	10	19
L... G	73	67	1	4	9	19
M... D	80	75	2,5	5	8,5	9
M... J	76	73,5	3,5	7	8	8
G... J	86	71,5	2,5	5,5	9,5	11
C... T	66	75	2	5	12	6
C... L	65	76	1	5	10	8
P... Jp	72	64	2	9	10	15
B... C	76,5	67	2	7,5	9,5	14
B... A	81	64	3	9	11	13
O... A	72,5	61	1	9	12	17
P... G	70	73,5	1	6	7,5	12
T... J	80	67	4	7,5	11	10,5
G... L	75	62	2	12	8	16
M...M	65	63	2	9	10	16
M...M	71	67	5	8,5	9,5	10
D... C	70	73	3,5	9	6	8,5
L... C	74,5	81	0,5	5,5	6	7
B... C	65	67	3,5	10	8,5	11
V... B	74	77	3	6	7	7
C... P	76	69	3	9	9	10
L... Y	84	63	3,5	8	8	17,5
V... P	77	71	1,5	6	7	14,5
B... S	80	76	2,5	6,5	6,5	8,5
L... A	82,5	67	4	10,5	8,5	10
C... D	71	67	2,5	9,5	8	13
L... G	72	68	1,5	7	7,5	16
B... J	80	74	3	6,5	7,5	9
H... M	84	69	3	7	9	12
K... M	75	68	2	10,5	10	9,5
G... B	86	63	1	10	8	18
S... P	67	67	2	6	8,5	16,5
P... H	78	67	2	9	8	14
Z... P	74	70	2	8,5	10	9,5
B... L	75	68	2	10	11	9
S... G	80	71,5	3	6	8,5	11

SUJETS TEMOINS

NOMS	Protides	Albumine	α 1	α 2	β	γ
A... C	91	69	2	5	9	15
A... R	80	65	2	8	11	14
B... M	90	68,5	2	7	9,5	13
B... M	82	63	3	9	10	16
S... P	85	72	2	8	10	8
S... M	77	68	3	10,5	10	8,5
C... M	89	67	2	13	10	8
D... C	83	71	2	7	11	9
G... G	80	69	2	8	11	10
R... C	77	60	2	12	11	15
C... A	76	70	1	5	11	13
J... M	75	65	1	9	13	12
B... D	90	56	2	13	15	14
V... J	84	63	3,5	10	9	14,5
C... M	79	65	2	7	12	14
M... I	78	69,5	2	7,5	11	10
V... M	86	63	3	6	12	16
J... M	81	66	2,5	12,5	9	8
J... A	77	68	3	7,5	11,5	10
P... M	91	63	2,5	8	12,5	14
D... F	88	75	2	6	9	8
J... E	86	67	3	7	11	12
S... B	91	63	2	7	10	18
R... D	84	58	2	9	13	18
S... A	81	68	2	6	10	14
B... J	89	63	2	9	11	15
T... E	75	64	2	8	12	14
L... M	80	64	3	9	10,5	13,5
I... D	68	68	2	8	12	10
L... C	73	71,5	2	7,5	8	11
V... G	90	66	3	7,5	8	15,5

B - Etude statistique.

1) Protides

Les résultats des dosages sont donnés en grammes par litre.

a) Sujets d'étude

Le taux des protides varie de 65 à 88 grammes par litre

moyenne : 75,56 grammes par litre

écart-type : 5,68

variance : 7,5

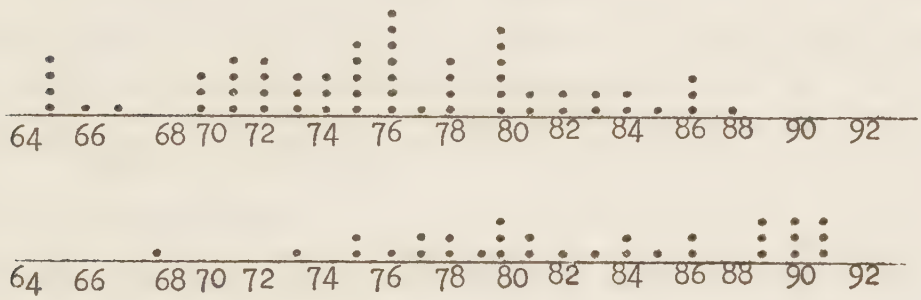
b) Sujets témoins

Le taux des protides varie entre 68 et 91 gr/litre

moyenne : 82,48 g/litre

écart-type : 5,84

variance : 7,1



Comparaison des pôlygones de fréquence.

La différence entre les moyennes est hautement significative en effet si l'on applique le test "t" de STUDENT

$$t = \frac{m_1 - m_2}{\frac{\sigma 1}{n_1} + \frac{\sigma 2}{n_2}}$$

ou m_1 et m_2 représente les moyennes

σ_1 et σ_2 les écarts-types

n_1 et n_2 le nombre de sujets d'étude et de sujets témoins

permettant de calculer le seuil de probabilité, on trouve t = 5,39 ce qui donne un seuil de probabilité inférieur à 1 p. 1000 ($P < .001$).

C'est dire que l'on a une chance sur mille, de retrouver un individu susceptible d'entrer incidemment dans le cadre de cette étude.

Les résultats suivants, concernant les alpha 1, alpha 2 béta et gamma globulines ainsi que les albumines sont donnés en pourcentage de la quantité globale de protides.

En effet, si les études statistiques suivantes étaient éffectuées avec les résultats pondéraux ; sachant :

- que les résultats pondéraux, concernant les diverses fractions globuliniques sont donnés en fonction de la quantité totale de protides.

- que dans le cas présent, les sujets d'étude ont un déficit moyen en protides de 20 % par rapport aux sujets témoins.

On introduirait dans les calculs un facteur fixe de correction inférieur à 1 (0,8 dans le cas présent) ce qui risquerait de faire prendre, à tort, en considération une baisse pondérale d'une ou de plusieurs fractions globuliniques alors qu'elle ne serait, en fait, que le reflet de la diminution de la quantité totale de protides.

2) Alpha I globulines

a) Sujets d'étude

Le taux des α_1 globulines varie de 0,5 à 5 %.

moyenne : 2,31

écart-type : 0,89

variance : 38,5

b) Sujets témoins

Amplitude de variation de 1 à 3,5 %.

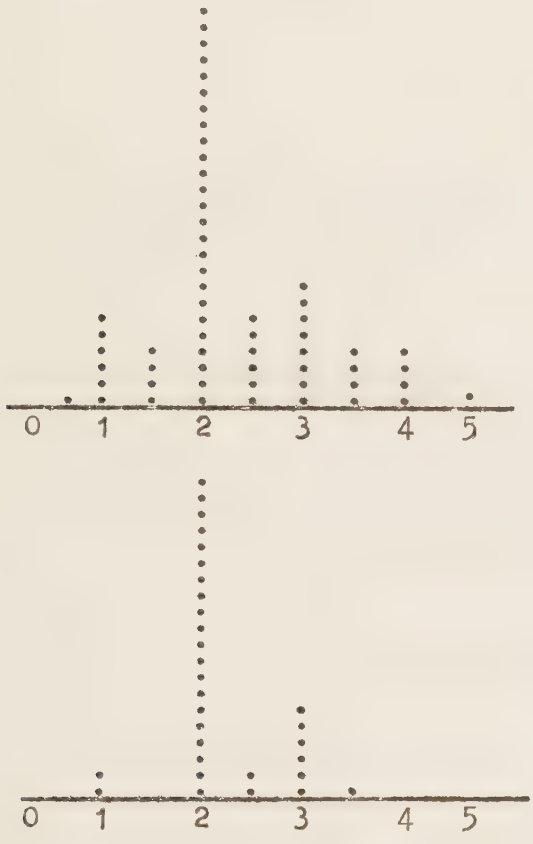
moyenne : 2,21

écart-type : 0,53

variance : 24

Il n'existe aucune différence entre les moyennes des sujets témoins et des sujets d'étude, cependant si l'on compare les variance au moyen du test "F" de SNEDECOR où $F = \frac{\sigma 1}{\sigma 2}$

On a F = 2,8 ce qui revient à dire que les variances de distributions diffèrent de façon statistiquement significative avec un seuil de probabilité inférieur à 1 p. 100 ($P < .01$).



Ainsi, bien que les moyennes soient égales, les deux groupes diffèrent par leurs variances ; c'est à dire que, compte tenu du nombre de sujets, les sujets d'étude ont une courbe plus étalée que les sujets témoins.

3) Alpha 2 globulines

a) Sujets d'étude

Le taux moyen des α_2 globulines varie de 4 à 12 %

moyenne : 7,48

écart-type : 1,88

variance : 25,1

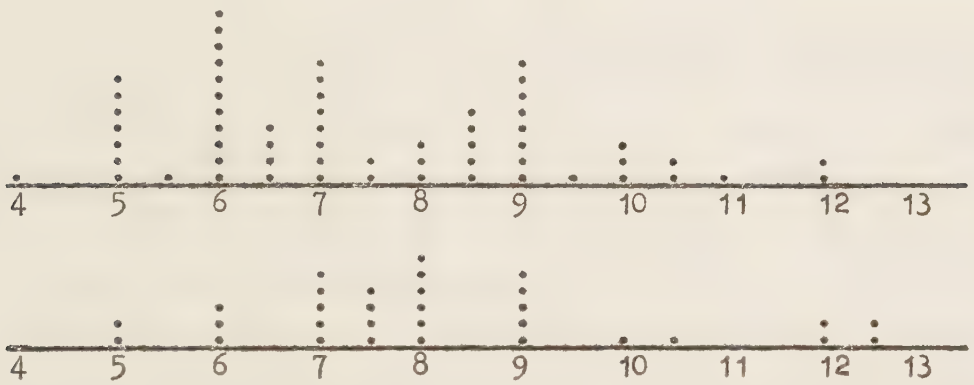
b) Sujets témoins

Amplitude de variation de 5 à 12,5 %

moyenne : 7,74

écart-type : 1,98

variance : 25,5



Il n'existe aucune différence entre les moyennes, les écart-types sont similaires, les variances et les amplitudes comparables, donc aucune différence.

4) Béta globulines

a) Sujets d'étude

Le taux des β globulines varie de 6 à 13 %

moyenne : 9,03

écart-type : 1,62

variance : 17,9

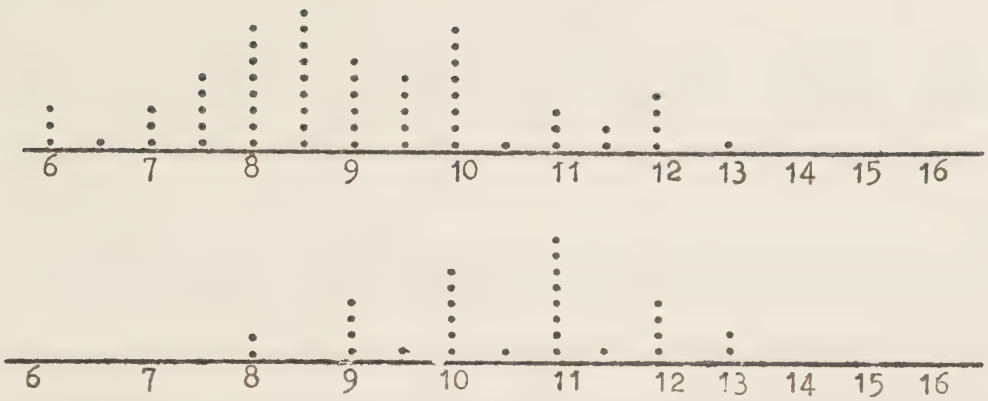
b) Sujets témoins

Amplitude de variation de 8 à 15 %

moyenne : 11,08

écart-type : 1,51

variance : 14



La différence des moyennes entre les deux groupes est hautement significative, en effet, si l'on applique le test de STUDENT on a t = 5,84, le seuil de probabilité est donc inférieur à 1 p. 1000 ($P < .001$).

Les amplitudes sont différentes (6 - 13 pour les sujets d'étude contre 8 - 15 pour les témoins) ; mais on doit remarquer que pour les valeurs inférieures à la moyenne (m = 9) il y a 29 sujets d'étude sur 59 situés au dessous soit 49 % alors que 2 sujets témoins seulement sur 31 se trouvent au dessous soit 6,5 %.

Il existe donc une baisse statistiquement significative des β globulines.

5) Gamma globulines

a) Sujets d'étude

Le taux des γ globulines varie de 6 à 19,5 %

moyenne : 12,19

écart-type : 3,50

variance : 28,7

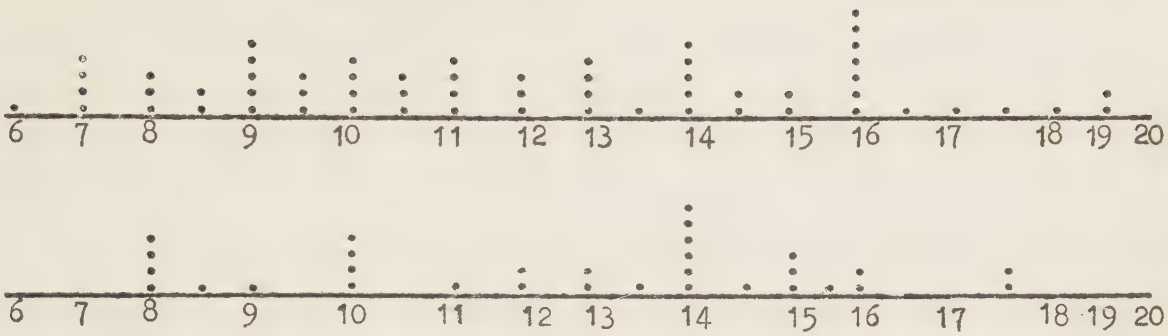
b) Sujets témoins

Amplitude de variation de 8 à 18, 5

moyenne : 12,61

écart-type : 2,93

variance : 23,2



Il n'existe aucune différence entre les moyennes, les écart-types, variances et amplitudes de variation sont en tout point comparables.

Donc aucune différence pour les γ globulines.

6) Albumines.

a) Sujets d'étude

Le taux des albumines varie de 60 à 81 %

moyenne : 68,83

écart-type : 4,73

variance : 6,9

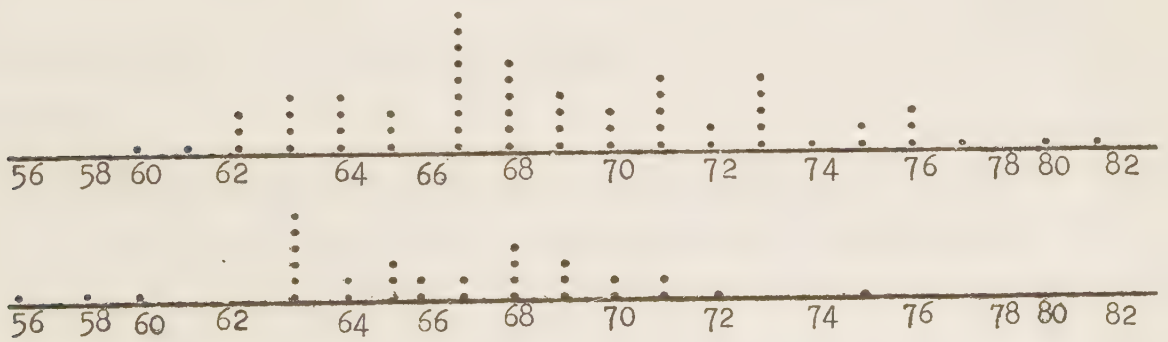
b) Sujets témoins

Amplitude de variation de 56 à 75 %

moyenne : 66,03

écart-type : 4,00

variance : 6,06



La moyenne du pourcentage d'albumine des sujets d'étude est supérieure à celle des sujets témoins. La différence des moyennes est significative avec un seuil de probabilité inférieur à 1 p. 100 ($P < .01$).

Remarque : en lui même, ce fait est banal, en effet étant donné que la somme albumine $+\alpha_1 +\alpha_2 +\beta+ \gamma$ est une constante (100%) ; si l'un des caractères diminue (ici les β) alors que les autres termes restent constants ($\alpha_1, \alpha_2, \gamma$) il est bien évident que le caractère restant augmente.

C - Conclusion

L'étude statistique précédente nous permet donc de mettre en évidence une biasse significative des protides sanguins chez les sujets qui s'immunisent mal contre les virus poliomyélitiques. Ainsi qu'une baisse moyenne significative de 18 % sur β globulines.

	MOYENNE		ECART-TYPE		VARIANCE		AMPLITUDE	
	S. étude	Témoins	S. étude	Temoins	S. étude	Témoins	S. étude	Témoins
ALBUMINE	68,83	66,03	4,73	4	6,9	6,06	60-81	56-75
Alpha I	2,31	2,21	0,89	0,53	38,5	24	0,5-5	1-3,5
Alpha II	7,48	7,74	1,88	1,98	25,1	25,5	4-12	5-12,5
Béta	9,03	11,08	1,62	1,51	17,9	14	6-13	8-15
Gamma	12,19	12,61	3,50	2,93	28,7	23,2	6-19,5	8-18,5
Protides	75,56	82,48	5,68	5,84	7,5	7,1	65-88	68-91

Les globulines sont strictement normales, ainsi que les α_1 et α_2 globulines.

En conséquence, seul un déficit en β globulines est a retenir, que l'immuno électrophorèse va confirmer chez un grand nombre de sujets.

V - ETUDE DES RESULTATS D'IMMUNO ELECTROPHORESE.

A - Principe

1) Rappel de la nomenclature des immunoglobulines.

La nomenclature actuelle des immunoglobulines (Ig) se résume ainsi :

Actuelle	Ancienne
Ig G ou γ G	γ - 7S γ - γ_2 - γSS
Ig A ou γ A	β_2A - γ_1A
Ig M ou γ M	γ IM - β_2 M - 19 S γ macroglobuline

2) Résumé de la technique

L'immuno électrophorèse consiste à séparer par précipitation immunologique, les différentes fractions protéiques qui ont migré simultanément dans une même zone électrophorétique et ne peuvent ainsi être dissociées dans l'électrophorèse sur papier.

Ainsi peut-on constater que la bande des gammaglobulines est en fait constituée de plusieurs fractions immunologiquement distinctes, donnant à l'immuno électrophorèse trois traits de précipitation différente, le trait des γG ou Ig G le plus important et le plus étendu, celui des Ig A et des Ig M qui sont à la limite de la zone des gammaglobulines et des β globulines.

Ces immunoglobulines peuvent être séparées selon leur critère de sédimentation par ultra-centrifugation. On constate alors qu'il existe deux fractions différentes sédimentant dans des zones différentes correspondant à un poids moléculaire distinct (base du classement des immunoglobulines par les auteurs américains, en particulier GITLIN).

Les Ig G et les Ig A sédimentent dans la zone des 7 S et correspondent à un poids moléculaire de 160.000, les Ig M sédimentent dans la zone des 19 S et ont un poids moléculaire de 1.000.000 (7 S et 19 S correspondent à des unités Svedberg établies d'après une constante de sédimentation).

On a donc 7 S γ_2 ou Ig G, 7 S γ_1 ou Ig A, 19 S γ_1 ou Ig M.

La technique classique d'immuno électrophorèse, type GRABAR et WILLIAMS consiste, après avoir pratiqué une électrophorèse sur gelose a faire agir un immun serum qui précipite les différentes fractions d'immunoglobulines.

Dans le cas du Sérum humain "l'immun sérum équin anti sérum humain total" permet de déceler la plupart des constituants.

L'enregistrement des résultats se faisant par photographie.

Dans le cas présent les immuno électrophorèses ont été pratiquées suivant la micro-technique de SCHEIDEGGER.

(Voir photo page suivante)

B - Résultats

Sur les 59 sujets d'étude, 37 seulement ont subi une immuno électrophorèse en vue de l'étude des immunoglobulines.

Nous avons recruté à titre de comparaison 20 enfants se situant dans les mêmes limites d'âge mais n'ayant subi aucune vaccination antipoliomyélitique.

Les résultats sont donnés en fonction d'un sérum témoin. Il n'a pas été possible d'éffectuer de dosage quantitatif des immunoglobulines.

1) Sujets d'étude

Dans ce groupe de 37 sujets examinés, l'examen des résultats ne montre aucun déficit des Ig M et des Ig G.

NOMS	Ig A	Ig M	Ig G
B.... Serge	↘+	n	n
L.... Geneviève	↘+	n	n
K.... Martine	↘+ à ++	n	n
B.... Christian	↘+ à ++	+	n
G.... Laure	↘+ à ++	n	n
B.... Alain	↘+	n	n
S.... Dominique	↘++	n	n
B.... Laurent	↘+	n	n
B.... M.Christine	↘+ à ++	n	↘ +
M.... Martine	↘+	n	n
P.... Hervé	↘++	↘ ++	n
P.... Gérard	↘+	↘ +	n
C.... Fabienne	↘+	↘+	n
B.... Christian	↘++	n	n
G.... Denis	↘±	n	n
H.... Jacques	n	n	n
Z.... Pascal	↘± à +	n	n
B.... M.Hélène	↘± à +	n	n
O.... Alain	n	n	n
S.... Dominique	n	n	n
G.... Bernard	↘±	n	n
M.... J.Yves	n	n	n
F.... Annie	n	n	n
B.... J.Pierre	↘±	n	n
D.... Corinne	n	n	n
C.... Christine	n	n	n
P.... J.Claude	n	↘ +	n
N.... Jean	n	n	n
N.... Jacques	n	n	n
M.... Georges	↘± à +	n	n
M.... Jacques	↘±	n	n
T.... Joëlle	↘±	n	n
B.... Josette	n	n	n
T.... Gilles	n	n	n
M.... Claude	↘±	n	n
B.... Sylvie	↘±	n	n
B.... J.Pierre	↘± à +	n	n

Nous n'avons retenu comme baisse significative, qu'un déficit net noté ↘ + et au delà ↘ ++ ; les sujets présentant une baisse des Ig A assez peu importante (noté ↘ ±) n'ont pas été retenus.

Nous voyons donc qu'avec les conditions restrictives énoncées plus haut :

Sur les 37 sujets soumis à l'immuno électrophorèse, 24 ont une baisse des Ig A, dont 14 de manière significative.

Ce qui représente un pourcentage de 64 % de déficit en Ig A dont 38 % de manière très significative.

2) Sujets témoins

Le tableau ci-dessous, résume pour ces 20 sujets témoins d'immuno électrophorèse, l'état de leur immunisation naturelle avant vaccination et les résultats d'immuno électrophorèse.

NOMS	Anticorps avant vaccination				Ig A	Ig M	Ig G
		I	II	III			
P.... MArtine	+ - +	1/40	-	1/240	n	n	n
G.... A.Marie	- - -	-	-	-	n	n	n
R.... Patrick	+ + +	1/60	1/160	1/60	↘ +	n	n
V.... Georges	- + -	-	1/80	-	n	n	n
V.... Monique	- + +	-	1/80	1/180	n	n	n
B.... J.Yves	+ + +	1/20	1/160	1/640	n	n	n
J.... J.Jacques	+ + +	1/120	1/320	1/160	n	n	n
R.... Suzanne	+ + +	1/80	1/30	1/80	n	n	n
R.... Danielle	- + -	-	1/80	-	n	n	n
R.... Renée	+ + +	1/60	1/120	1/40	n	n	n
T.... Alain	+ + +	1/40	1/240	1/20	↘ ++	n	n
T.... Chantal	+ - +	1/20	-	1/160	↘ +	n	n
T.... Annick	- + +	-	1/320	1/120	n	n	n
H.... Elisabet	+ - -	1/160	-	-	↘ ++	n	n
H.... Georges	+ - -	1/480	-	-	n	n	n
M.... Murielle	+ + +	1/20	1/640	1/20	↘ +	↘ +	↘ ++
P.... Serge	- + +	NON FAIT			n	n	n
R.... Michel	+ + +	NON FAIT			n	n	n
V.... Patiaca	+ + -	NON FAIT			n	n	n
B.... Gisèle	+ + +	NON FAIT			↘ +	n	n

Photographie d'immuno-électrophorèse de B... Marie-Christine
suivant la micro-technique de SCHEIDEGGER.

A la lecture de ce tableau, on s'aperçoit que 5 sujets sur 20, présentent un déficit en Ig A, soit un pourcentage de 25 %.

C - Conclusion

Il existe dans le groupe des sujets d'étude un pourcentage de déficit en Ig A plus important que dans le groupe des sujets pris comme témoins d'immuno électrophorèse, (64 %, dont 38 % significatifs pour les sujets contre 25 % pour les témoins).

En fait :

1) On ne sait pas ce que sera la réponse des témoins d'immuno électrophorèse, après vaccination complète.

2) Le taux des Ig A est extrêmement variable :

a) Avec l'âge, il n'atteint le taux normal de l'adulte que vers l'âge de 6 - 7 ans, et certains sujets d'étude sont au dessous ou aux alentours de cet âge.

b) Suivant les différentes méthodes de dosage, on trouve de très grandes variations dans les résultats ; ainsi :

- Si le taux normal est classiquement évalué à 1,12 mg/ml (HEREMANS 1960), par la méthode de diffusion simple en tube d'OUDIN (celle ci met en présence un mélange d'immun sérum et de gélose d'une part, de gammaglobulines d'autre part et permet par le précipité qui résulte de cette rencontre de déterminer la quantité de gammaglobulines présentes d'après la distance séparant celui-ci de la ligne de séparation gélose sérum).

- CHODIRKER - TOMASI (1963) l'évalue à 1,78 mg/ml.

- KEIMOWITZ (1964) sur 9 sujets l'évalue à 2,14 mg/ml avec une variation de 1,02 à 3,57 mg/ml.

- FAHEY - LAWRENCE (1963) sur 19 sujets trouvent une moyenne de 3,94 mg/ml par la réaction d'inhibition de l'antiglobuline humaine, basée sur le fait que le pouvoir agglutinant du sérum de lapin antiglobuline

humaine d'une réaction de Coombs diminue ou disparait totalement après contact de ce sérum avec une solution de globuline humaine.

- CLAMAN - MERILL (1964) sur 54 sujets l'évalue à 3,95 mg/ml avec une variation de 1,18 à 10,65 mg/ml (tubes d'OUDIN).

- WOLEIM - WILLIAMS (1965) sur 50 sujets trouvent une moyenne de 2,94 mg/ml avec une variation de 0,30 à 7 mg/ml, par la méthode de précipitation quantitative consistant à mesurer la quantité de précipité qu'un antisérum spécifique engendre par contact avec un volume mesuré de la solution antigénique, la précipitation se faisant d'abord avec des gammaglobulines à des taux de 0,05 à 0,5 mg/ml puis avec le sérum à tester ; le dosage se faisant alors par comparaison.

On voit donc l'extrême difficulté du diagnostic de déficit en Ig A et les résultats que nous donnons seront donc interpretés avec toute la prudence qui convient.

VI - DOSAGE D'ANTICORPS ANTIDIPHTERIQUES.

Pour terminer cette étude sur les sujets "réfractaires" à la vaccination antipoliomyélitique, nous avons chercher à savoir qu'elle était la modalité de réponse de ces sujets envers d'autres vaccinations en particulier antidiphtérique.

Il nous a été possible de pratiquer chez 29 sujets sur 59, un dosage d'anticorps antidiphtérique par la méthode de René TRIAU (Institut Mérieux, mai 1964).

A - Principe du titrage de l'antitoxine diphtérique en cellule KB.

La toxine diphtérique ayant un très haut pouvoir toxique pour les cultures cellulaires, on mettra en évidence sa neutralisation par une dilution de sérum antitoxique, en recherchant la suppression de ce pouvoir nocif.

L'épreuve est en quelque sorte colorimétrique.

En effet, dans des tubes de verre où on a versé une suspension de cellules vivantes avec un milieu de culture approprié, on observe au bout de 48 heures, 3 jours, un changement de couleur du milieu : les cellules après s'être accrochées au fond du tube de verre, se multiplient, se nourrissent et ce métabolisme entraine une acidification du millieu dont témoigne le virage du rouge au jaune de l'indicateur coloré (rouge de phénol).

Si la toxine diphtérique a détruit les cellules avant qu'elles ne s'accrochent au fond du tube, il n'y a plus de changement de couleur, aucun métabolisme ne pouvant s'établir et se poursuivre. Quand, par contre, la toxine a été neutralisée par une quantité suffisante d'antitoxine les cellules KB se développent et font virer le milieu.

On met donc en contact une dose fixe de toxine diphtérique avec des dilutions de sérum antitoxique.

1) Titrage de la toxine.

La toxine lyophilisée est titrée par rapport à un sérum antitoxine étalon au 1/50 Unité Internationale par ml (Sérum étalon antitoxine de Copenhague OMS Staten Serum Institut. Solution de sérum hyperimmun de cheval dans du soluté glycérolé à 60 %. L'unité Internationale de l'étalon actuel de sérum diphtérique est de 0,0628 mg.).

On fait une dilution de la toxine du 1/10 au 1/25000.

On met en contact 0,5 ml de cette toxine avec 0,2 ml de sérum antitoxique étalon au 1/50 UI par ml. On ajoute une suspension de cellules KB à 100.000 cellules par ml, avec rouge de phénol, on recouvre d'huile de paraffine et on porte à l'étuve à 37° C pendant 2 jours.

Ce qui donne une gamme colorée, le premier tube jaune correspond au titre de la toxine à utiliser.

2) Titrage du pouvoir antitoxique du sérum humain.

On fait une dilution du 1/2 au 1/250 du sérum à tester dans du milieu au TRIS. On prend 0,2 ml de cette dilution que l'on met en contact avec 0,5 ml de toxine au titre choisi précédemment.

On recouvre de paraffine, on place à l'étuve à 37° et on pratique la lecture 48 heures après.

Le dernier tube jaune correspond au titre du sérum. Une simple règle de trois permet de calculer le titre du sérum à étudier :

Soit un sérum inconnu dilué au 1/50, et dont 0,2 ml neutralise la dose test de toxine comme l'aurait fait 1/250 UI de sérum étalon.

On dira que ce sérum titre : 50 x 1/250 pour 0,2 ml

Soit 50 x 1/250 x 5 pour 1 ml. soit 1 UI/ml.

Le taux de protection, d'un sérum dosé par cette méthode est évalué aux environs de 1/30 UI par ml soit 0,03 UI/ml.

B - Etude des résultats des dosages d'antitoxine diphtérique.

Ces dosages ont été pratiqués sur l'échantillon de sang prélevé pour le dosage d'anticorps antipoliomyélitiques. Ces enfants avaient reçu une vaccination antidiphtérique complète soit 3 injections et 1 rappel.

La seconde colonne du tableau suivant indique l'écart qui sépare ce dosage de la dernière injection de rappel antidiphtérique.

La lecture de ce tableau permet les constatations suivantes :

Pour les 10 sujets, chez qui la dernière injection date de moins de 4 ans, le taux d'antitoxine diphtérique présent dans leur sérum est largement supérieur au taux moyen de protection de 0,03 UI/ml puisqu'il oscille entre 0,05 à 5 UI par ml.

Pour les sujets chez qui le taux d'antitoxine est inférieur au taux de protection, on note un taux d'autant bas que l'écart entre la dernière injection et le dosage est plus grand.

	Taux d'antitoxine diphtérique	Ecart en années	Anticorps antipoliomyélitiques après vaccination complète		
F.... Annie	0,02	7	1/80	-	1/480
D.... Corinne	0,02	4	1/10	1/15	-
B.... Serge	0,20	3	1/320	1/60	-
G.... Denis	0,02	4	1/30	-	1/40
T.... Gilles	0,05	3	1/160	1/180	-
F.... Alain	0,005	8	1/60	1/160	-
M.... Claude	0,025	13	1/30	1/60	-
M.... Danielle	0,013	7	1/120	1/240	-
M.... Jacques	0,003	10	1/80	1/80	-
H.... Jacques	0,006	7	-	1/15	-
B.... Sylvie	0,025	4	1/30	1/60	-
C.... Fabienne	0,002	7	-	1/30	1/15
G.... Josette	5	1	1/80	1/1280	-
S.... Guy	0,025	5	1/40	1/30	-
B.... Josette	4	2	1/320	1/40	-
B.... Christian	0,20	4	1/30	1/120	-
B.... Alain	4	1	1/40	1/120	-
G.... Laure	0,005	6	1/40	1/2560	-
M.... Martine	0,025	5	1/480	1/80	-
D.... Christine	0,013	5	1/20	1/640	-
B.... Christian	0,025	4	1/40	1/60	-
V.... Bruno	0,013	5	1/60	1/320	-
C.... Pierre	0,006	5	1/80	1/160	-
L.... Yves	0,20	2	1/120	-	1/20
V.... Pascal	0,05	3	1/15	1/80	-
B.... Sylvie	0,20	2	1/320	1/120	-
C.... Daniel	0,02	4	1/10	1/20	-
Z.... Pascal	1	3	-	1/10	-
O.... Alain	0,20	3	1/3840	1/60	-

En conséquence, ces sujets conservent une protection efficace contre la diphtérie, en moyenne 4 ans après la dernière injection de rappel, ce qui correspond à une très bonne réponse de leur système immunitaire.

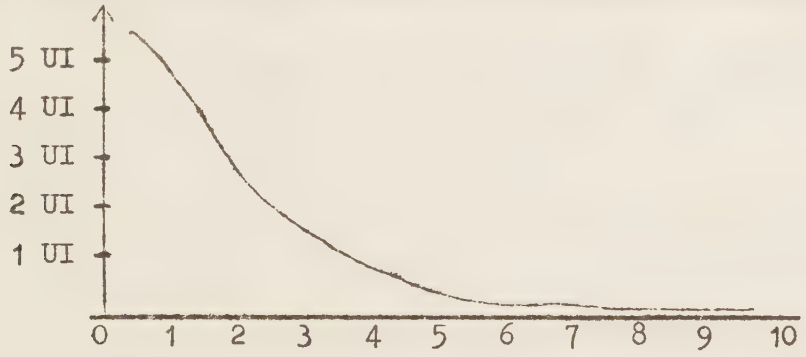
On pourrait s'étonner de la discordance apparente entre cette immunisation correcte vis à vis de la diphtérie et l'absence d'immunisation vis à vis de la poliomyélite chez les mêmes sujets.

En fait, le support des anticorps n'est peut-être pas le même dans les deux cas. En effet, il est prouvé (H.E SCHULTZE 1959) que les anticorps antidiphtériques sont portés en majorité par les Ig G.

	Ig G	Ig A	Ig M
Diphtérie	+++	+	+

accéssoirement par les Ig A et Ig M.

Les Ig G de nos sujets sont normales, seules les Ig A sont diminuée dans un grand nombre de cas, et l'on ne connait pas encore à l'heure actuelle de façon certaine le support de l'immunité antipoliomyélitique.



Nombre d'années après le dernier rappel.

Courbe de l'immunisation antidiphtérique des sujets en fonction du temps.

En conclusion, ces sujets "réfractaires" à la vaccination antipolipmyélitique acquièrent normalement, en quantité et en durée, une immunité antidiphtérique post-vaccinale.

oooOooo

C O N C L U S I O N S

Cette étude sur l'immunisation antipoliomyélitique par le vaccin LEPINE injectable de 59 enfants "réfractaires" à la vaccination, nous a permis de faire les constatations suivantes :

1. - Il n'y a pas d'âge prédisposant à ce défaut d'immunisation, nos sujets d'étude ont un âge moyen de 10 ans et demi et se répartissent également de part et d'autre, de 6 à 19 ans.

2. - La répartition des groupes sanguins est identique à la répartition statistique trouvée dans la population européenne.

3. - Les deux sexes sont également représentés, quoiqu'une légère prédominance du sexe masculin soit retrouvée dans le cas présent 21 filles pour 38 garçons.

4. - Sur ces 59 sujets présentant un déficit en anticorps après vaccination complète :

4 ont un déficit en anticorps du type I et II

4 ont un déficit en anticorps du type II

1 a un déficit en anticorps du type I

50 ont un déficit en anticorps du type III.

On voit donc la nette prédominance du déficit en anticorps du type III, ce qui confirme la difficulté, bien connue, d'acquérir l'anticorps contre ce type de virus.

5. - En revanche, ces mêmes enfants sont capables d'acquérir une immunité antidiphtérique post vaccinale à des taux normaux pendant une durée correcte.

6. - Les résultats d'électrophorèse montrent qu'il existe chez ces sujets "réfractaires" à la vaccination antipoliomyélitique une baisse statistiquement significative des β globulines que l'immuno électrophorèse confirme dans un grand nombre de cas comme étant un déficit en Ig A sans qu'aucune relation de cause à effet puisse être retenue de façon certaine.

ooOoo

Vu, le Président de Thèse :

Pr. THIEFFRY

Vu, le Doyen de la Faculté :

Pr. G. BROUET

Vu et Permis d'Imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris

Jean ROCHE

B I B L I O G R A P H I E

1 - AUBERTIN E., PAUTRIZEL R. et SZENSNOVICZ F.

Production d'anticorps poliomyélitiques au cours de la vaccination par virus inactivé.
Journal de Médecine de Bordeaux et du Sud Ouest. 1963, 140 nº 12 déc. pp 1835 - 1848.

2 - BATTISTELLI F. et BARBEAU.

Problèmes posés par la vaccination antipolio (virus tués et vivants).
Gazette médicale, Paris 1963, 70 nº 24 pp 3931 - 3932.

3 - BIDAU P. et SORGUI F.

Valore clinico et significato dell'intradermoreazione con antigene antigene poliomielitico inattivato nella malattia di Heine Medin.
Annali Italiani di Pediatrica, Cagliari 1964, 17 nº 4 pp 398 - 417.

4 - BROWN GC.

Differentiation of active and passive response to poliomyelitis vaccine.
Archiv für die Gesamte Virusforschung, Wien 1963, nº 1, Januar pp 93 - 97.

5 - FERGUSON JKW.

The story of poliomyelitis vaccine.
Canadian Journal of public health. Toronto 1964, 55, nº 5 may pp 183 - 190.

6 - GEYAUDAN P., CHANEL J. et PALANGUE N.

Statistiques au sujet de la valeur du vaccin antipoliomyélitique inactivé français.
Bulletin de l'Académie de Médecine. Paris 1963, 147 nº 5 - 6 pp 110 - 116.

7 -

Immunization against poliomyelitis.
British Medical Journal, London 1963, nº 5331, March 9 pp 623 - 624.

8 - LARSEN AA., ING WK. et MACLEOD DR.

Poliovirus antibodies in British Columbia school children, 1961.
Canadian Journal of public health Toronto 1965, 56 n° 2 pp 51 - 53.

9 - LEPINE P.

Les méthodes vaccinales et l'immunisation contre la poliomyélite.
Archivo Italanio, Roma 1964, 45 n° 8 agosto pp 391 - 414.

10 - LIPPI M., FONTANNA G. et TAGLIERI G.

Riposta sierologica in lattanti trattati con vaccino antipoliomie litico inattivato.
Archivio italiano Paris 1963, 44 n° 1, pp 43 - 45.

11 - MARTIN R., DAMAS JP. et GEOLIN G.

Sur la durée de l'immunité conférée par le vaccin antipoliomyélitique français (vaccin Lépine). Calendrier des injections de rappel.
Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine Paris 1965, 149 n° 5 - 6 pp 85 - 94.

12 - A propos de la vaccination antipoliomyélitique.
Presse Médicale Paris 1963, 71 n° 11, 2 mars pp 551 - 553.

13 - WINTER P.A.D.

Serological results of poliomyelitis vaccine.
South africain Journal, Cape Town 1963, 37, n° 19 pp 510-513.

14 - WITZELL H.

Zur Antikorperbildung nach Imfung mit gemischten Impfstoffen.
Zeitschrift fur immunitato und allergie.
Forschung. Stuttgart 1964, 126, n° 4 april pp 364 - 380.

15 - BLANCHER G., LARNAUDIE L. et ROSSIER A.

Résultats des dosages d'anticorps au cours de la vaccination antipoliomyélitique. Bilan d'une enquète.
Semaine des Hôpitaux Paris, Annales de Pédiatrie 1961, 37 n° 2114, 14 avril, 1287 - 1289.

16 - BURGIN, WOLFF A., BERGER E. et JUST M.

Bildung und Persisten von Antikorpen gegen die Kinderlahmung nach Salk-vaccination.
Schweizerischz Medizinische Wochenschrift. Basel 1960, 90, n° 23, 4 juni, pp 633 - 667.

17 - CRAMBLETT HG. et FOMON SJ.

Unpredictability of antibody response of infants to injections of Salk poliomyelitis vaccine.
Journal of Pediatrics, St Louis 1961, 58, nº 6, june, pp 779 - 784.

18 - DANE DS. et DICK GA.

Antibody to poliovirus in a well-immunised community.
Lancet, London 1961, 1, nº 7188, 3 june, pp 1217 - 1219.

19 - HEYN, RUTH et CAROLL CATHERINE J.

The relation ship of gamma-globulin levels to antibody response in the enfant.
A.M.A. Journal of diseases of children Chicago 1958, 96, nº 4 october, pp 523 - 524.

20 - LEPINE P.

Etude antigéniques sur le vaccin antipoliomyélitique français.
Annales de l'Institut Pasteur Paris 1959, 97 nº 6 déc. pp 780 - 793.

21 - ROCHA JM.

Avolucao das vacinas antipoliomieliticas de Kolmer à Sabin.
Instituto de Puericultura, Rio de Janeiro 1960, 17, nº 4 pp 345 - 351.

22 - SALK JE.

Persistence of immunity after administration of formalin-treated poliovirus vaccine.
Lancet London 1960, 2, nº 7153, pp 715 - 723.

23 - BROWN GC., SMITH D., PROTHRO WB., ROWE RE.

Duration of sero immunity after poliomyelitis vaccination.
Jama 166 - 16 avril 1958, pp 1960 - 1964.

24 - FRANCIS T.

Evaluation of the 1954 poliomyelitis vaccination, tried trial.
Jama - 6 aout 1965, pp 1266 - 1270.

25 - THIEFFRY S. et CELERS J.

Problèmes de vaccination antipoliomyélitique.
Revue du Praticien. T VII, nº 10, avril 1957, pp 1081 - 1090.

26 - BATSON R., CHRISTIE A. et coll.

The persistence of poliomyelitis antibodies after primary immunization in young infants.
Pediatrics 1959, 23, pp 1950.

27 - MARTIN R., ROGER F., DAMAS JP., ROGER A.

Deux ans et demi de vaccination antipoliomyélitique (vaccin Lépine).
à l'hôpital de l'Institut Pasteur. 1959, 97, pp 757 - 778.

28 - LEPINE P., ROGER F., ROGER A.

La réaction cinétique de séro neutralisation du virus poliomyélitique.
Bulletin OMS 1959, 70, pp 563 - 628.

29 - LEVY FM.

Evaluation de l'aptitude à l'immunisation active chez le nouveau né et le nourrisson.
Séminaire sur le calendrier des vaccinations CIE Paris X 1959.

30 - SABIN AB.

Prevention of poliomyelitis by vaccination.
Adv. Pediatrics. USA 1958, 10, pp 197 - 242.

31 - LEPINE P.

La vaccination contre la poliomyélite. Données pratiques.
Presse Médicale 1959, 67, n° 23, pp 941 - 943.

32 - LEPINE P.

A propos des vaccins et vaccinations contre la poliomyélite.
Revue d'immunologie, tome XXIII, n° 1,2, pp 1 - 14, 1959.

33 - PERKINS FT., YETTS R. et GAISFORD W.

A comparaison of the response of 100 infants to primary poliomyelitis immunization with two and three dc se of vaccine.
British Medical Journal 1959, pp 1083 - 1086.

34 - PERKINS F., SALK J.

Poliomyelitis vaccination. Discussion. Preceedings of a symposium on immunization in childhood.
E.J. Livingstone LTD, Edinburg and London, 1959, 43.

35 - LEVEQUE B.

Déficit en immunoglobulines.
Semaine des Hôpitaux n° 38/39 aout, septembre 1965,pp 563-568.

36 - SCHULTZE HE.

Clinica chimica acta. volume 4, 1959.

37 - GRABAR et BURTIN.

Analyse immuno électrophorètique.

38 - ROSSIER A., LARNAUDIE L.

Bulletin de l'Institut National de la santé et de la recherche Médicale.
Septembre, octobre 1965. pp 607 - 624.

39 - SCHWARTZ et LAZAR.

Eléments de Statistiques. Chapitre XI, pp 117.

ooOoo

EDITIONS A.G.E.M.P.
8 RUE DANTE
- PARIS V° -
ODÉ 58-90